

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ALGA MERAH *Eucheuma spinosum* ASAL
PERAIRAN GALESONG KABUPATEN TAKALAR TERHADAP
BAKTERI *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis***



Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar
Sarjana Sains Jurusan Kimia Pada Fakultas Sains
dan Teknologi UIN Alauddin Makassar

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Oleh:
SRI WAHYUNI
NIM: 60500112053

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN
MAKASSAR**
2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sri Wahyuni
NIM : 60500112053
Tempat/ Tgl Lahir : Batangkaluku/ 26 Juli 1994
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : Jl. Malino Batangkaluku, Gowa
Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* Asal Perairan Galesong Kabupaten Takalar terhadap Bakteri *Salmonella thyp* idan *Bacillus subtilis*.

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran penuh bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa skripsi merupakan duplikat, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata-Gowa, September 2016

Penyusun

SRI WAHYUNI
NIM : 60500112053

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* Asal Perairan Galesong Kabupaten Takalar terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Salmonella thypi*” yang disusun oleh **Sri Wahyuni, NIM : 60500112053** mahasiswa jurusan Kimia pada fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang munaqasyah yang diselenggarakan pada hari senin 5 September 2016 bertepatan 3 Dhu-alhijjah 1437 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam Ilmu Kimia, jurusan Kimia (dengan beberapa perbaikan).

Samata-Gowa 5 September 2016

3 Dhu-alhijjah 1437 H

DEWAN PENGUJI :

Ketua	: Dr. M. Thahir Maloko, M.HI	(.....)
Sekretaris	: Asriani Ilyas, S.Si., M.Si	(.....)
Munaqisy I	: Sjamsiah, S.Si., M.Si., Ph.D	(.....)
Munaqisy II	: Syamsidar HS, ST., M.Si	(.....)
Munaqisy III	: Dr. Muhammad Sadiq Sabry, M.Ag	(.....)
Pembimbing I	: Dr. Maswati Baharuddin, S.Si., M.Si	(.....)
Pembimbing II	: Sappewali, S.Pd., M.Si	(.....)

Diketahui oleh :
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag
NIP : 19691205 199303 1 001

DAFTAR ISI

	Hal
JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	1-8
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9-30
A. Tinjauan Umum Alga Merah (<i>E. spinosum</i>)	9
B. Metabolit Sekunder Alga Merah	
<i>Eucheuma spinosum</i>	12
C. Ekstraksi.....	16
D. Bakteri	17
1. <i>Salmonella thypi</i>	22
2. <i>Bacillus subtilis</i>	23
E. Antibakteri	25

F. Pengujian Aktivitas Antimikroba	28
G. <i>Gas Chromatography-Mass Spectroscopy</i>	29
BAB III METODE PENELITIAN	31-35
A. Waktu dan Tempat	31
B. Alat dan Bahan	31
C. Prosedur Kerja	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36-49
A. Hasil Penelitian	36
B. Pembahasan	39
BAB V PENUTUP	50
A. Kesimpulan	50
B. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	50-69
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	xiv

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 2.1 Komposisi Nilai Nutrisi Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	16
Tabel 4.1 Warna Ekstrak Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	36
Tabel 4.2 Daya Hambat Ekstrak Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i> terhadap <i>Bacillus subtilis</i>	36
Tabel 4.3 Daya Hambat Ekstrak Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i> terhadap <i>Salmonella thypi</i>	37
Tabel 4.4 Hasil Uji Daya Hambat Kontrol positif dan Kontrol Negatif terhadap <i>Salmonella thypi</i>	37
Tabel 4.5 Hasil Analisis Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i> dengan GC-MS	37

DAFTAR GAMBAR

		Hal
Gambar 2.1	Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	10
Gambar 2.2	Struktur Dasar Flavonoid	13
Gambar 2.3	Struktur Dasar Triterpen	14
Gambar 2.4	Struktur Senyawa Alkaloid	15
Gambar 2.5	Kurva Pertumbuhan Bakteri	20
Gambar 2.6	<i>Salmonella thypi</i>	22
Gambar 2.7	<i>Bacillus subtilis</i>	24
Gambar 4.1	Kromatogram Ekstrak Etanol Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	38
Gambar 4.2	Spektra Massa Puncak 1	38
Gambar 4.3	Reaksi Penguraian Fosfolipida Pada Membran Sitoplasma Bakteri Oleh Flavon	46
Gambar 4.4	Struktur Antosianidin	48
Gambar 4.5	Fragmentasi Antosianidin	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1 Skema Penelitian	51
Lampiran 2 Skema Pembuatan Media Bakteri Uji	52
Lampiran 3 Skema Ekstraksi Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	53
Lampiran 4 Skema Peremajaan dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji ..	55
Lampiran 5 Skema Pengujian Daya Hambat Ekstrak <i>Eucheuma spinosum</i>	56
Lampiran 6 Skema Analisis Senyawa Menggunakan GC-MS	57
Lampiran 7 Perhitungan Pembuatan Konsentrasi Ekstrak dalam Variasi Konsentrasi	58
Lampiran 8 Preparasi Sampel	59
Lampiran 9 Ekstraksi Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	60
Lampiran 10 Warna Ekstrak dengan Penguapan Suhu Ruang dan Suhu Oven	61
Lampiran 11 Inokulasi Bakteri	62
Lampiran 12 Pembuatan Suspensi Bakteri	63
Lampiran 13 Uji Aktivitas Daya Hambat	64
Lampiran 14 Hasil Persen Volume	69

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu ‘alaikum Wr. Wb

Segala puji hanya milik Allah swt Yang Maha Kuasa, berkat Rahmat, Taufik, Inayah dan Hidayah-Nya sehingga skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* Asal Perairan Galesong Kabupaten Takalar terhadap Bakteri *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis*”, dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Penulisan karya ilmiah ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana sains di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

Terima kasih penulis ucapkan kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, utamanya kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda H. Nai dan ibunda Hj. Mami untuk nasehat, motivasi dan dukungan yang selalu membangkitkan semangat untuk ananda tercinta serta kepada saudara-saudaraku Firmansah dan Nurfadhyla Isni atas doa dan dukungan material dan spiritual kepada penulis. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada:

1. Bapak Prof. Musafir Pababbari M. Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
2. Bapak Prof. Dr. Arifuddin, M.Ag, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

3. Ibu Sjamsiah S.Si., M.Si., Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan selaku penguji yang senantiasa memberikan kritik dan saran guna menyempurnakan skripsi ini.
4. Ibu Aisyah S.Si., M.Si, selaku sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
5. Ibu Maswati Baharuddin S.Si., M.Si selaku pembimbing I yang berkenan memberikan kritik dan saran serta bimbingan dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Sappewali S.Pd., M.Si, selaku pembimbing II yang telah berkenan meluangkan waktu dan tenaganya dalam membimbing dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
7. Ibu Syamsidar HS, ST., M.Si dan Dr. Muhammad Shadiq Sabry M. Ag selaku penguji yang senantiasa memberikan kritik dan saran guna menyempurnakan skripsi ini.
8. Segenap Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah membantu dan memberikan ilmu kepada penulis.
9. Musyawirah Baharuddin, S.Pd.I selaku Staf Jurusan Kimia dan seluruh staf karyawan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang telah membantu dalam persuratan demi terselenggaranya skripsi ini.
10. Para laboran Jurusan Kimia, Kak Awal Ip S.Si., M.Si, kak Ahmad Yani S.Si, Kak Andi Nurahma S.Si, Kak Ismawanti S.Si, Kak Nuraini S.Si dan terkhusus untuk Kak Fitria Azis S.Si., S.Pd terima kasih banyak atas bantuan dan dukungannya.
11. Sahabat seperjuangan Nurrun Qaizul Mardiyah, Ayu Safitri Agustina, Dewi Wulan Putri , Hasra Yasin, Husna J, Fitrayani Bahar, Yuli Andriani, Rismang, Rizal

Irfandy, Kamsir, Muh. Tri Wirawan, Saiful Akbar, Muh Rafli, Siti Fauziah, Ayu Astuti, Yuliana, Asriani Jasri, sekaligus saudara seperjuangan di Kimia 2012, segenap senior dari angkatan 2011 juga junior angkatan 2013, 2014 dan 2015 serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

12. Rekan Penelitian saya (Nur Insani Amir) yang senantiasa menemani dari awal hingga penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak dan dapat bernilai ibadah di sisiNya. Amin ya Rabbal Alamin.

Wassalamu ‘alaikum wr wb.

Makassar, September 2016

Penyusun



ABSTRAK

Nama : Sri Wahyuni

NIM : 60500112053

Judul : “Uji Aktivitas Antibakteri Alga Merah *Eucheuma spinosum* Asal Perairan Galesong Kabupaten Takalar Terhadap Bakteri *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis*”

Indonesia merupakan salah satu Negara yang memiliki sumber daya laut yang besar dengan keanekaragaman biota lautnya. Salah satu dari biota laut yang dimiliki Indonesia ialah alga merah *Eucheuma spinosum*. Alga merah ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen maupun non patogen. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian ini meliputi pembuatan ekstrak dengan cara maserasi selama 3x24 jam kemudian evaporasi menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator*. Pengujian antibakteri pada ekstrak kental terhadap bakteri menggunakan metode difusi kertas cakram dengan lama perendaman selama 1 jam dan masa inkubasi 1x24 jam. Identifikasi senyawa dilakukan dengan menggunakan GC-MS.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform dengan berbagai konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Salmonella thypi* ialah dalam etanol yaitu sebesar 5,7 mm sedangkan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ialah dalam etanol yaitu sebesar 3,6 mm. Berdasarkan hasil GC-MS ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid.

Kata Kunci: antibakteri, *Bacillus subtilis*, *Eucheuma spinosum*, *Salmonella thypi*.

ABSTRACT

Name : Sri Wahyuni

NIM : 60500112053

Title : “Antibacterial Activity Test Red Algae *Eucheuma spinosum* Origin Of Galesong Waters Takalar Regency Against *Salmonella thypi* and *Bacillus subtilis* Bacterias”

Indonesia is one of country that has marine resources with a great diversity of marine biota. One of Indonesia's marine biota is a red algae *Eucheuma spinosum*. This red algae contains secondary metabolites, which has antibacterial activity against pathogenic and non-pathogenic bacterias. This research was conducted in order to determine the optimum inhibitory extract of red algae *Eucheuma spinosum* between ethanol and chloroform to *Salmonella thypi* and *Bacillus subtilis*. This study includes the manufacture of extracts by maceration during 3x24 hours then evaporated using *Rotary Vacuum Evaporator*. Testing antibacterial viscous extract against bacteria using paper disc diffusion method with a long soaking for 1 hour and 1x24 hour incubation period. The identification of compounds is done by using GC-MS.

The results showed that the extract of red algae *Eucheuma spinosum* has antibacterial activity capable of inhibiting the growth of bacteria marked by a clear zone around the paper disc. Inhibition of optimum extract of red algae *Eucheuma spinosum* between ethanol and chloroform with varying concentrations to *Salmonella thypi* is ethanol that is equal to 5.7 mm while *Bacillus subtilis* is ethanol that is equal to 3.6 mm. Based on the results of GC-MS extracts of red algae *Eucheuma spinosum* shows that it contains flavonoids.

Keywords: antibacterial, *Bacillus subtili*, *Eucheuma spinosum*, *Salmonella thypi*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang wilayahnya sebagian besar adalah lautan. Perairan nusantara dan daratan yang luas serta pulau-pulau yang banyak menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara yang memiliki sumber daya alam yang besar, khususnya pada sumber daya lautnya. Sebagai negara yang memiliki sumber daya laut yang besar, Indonesia memiliki keanekaragaman biota laut yang memiliki potensi yang dapat dimanfaatkan. Salah satu dari keanekaragaman biota laut yang dapat dimanfaatkan adalah makroalga.

Makroalga merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki ukuran yang besarnya berbeda-beda. Kebanyakan alga hidup pada wilayah perairan, baik di perairan tawar maupun perairan laut. Makroalga memerlukan substrat untuk hidup dan tempat menempel seperti pada batu, batu berpasir, tanah berpasir kayu dan juga menempel pada mikroorganisme lain (Marianingsih, 2013: 219). Alga terdiri atas tiga kelas, yaitu *Rhodophyceae* (ganggang merah), *Phaeophyceae* (ganggang coklat) dan *Chlorophyceae* (ganggang hijau) (Ghufran, 2010: 68). *Rhodophyceae* merupakan salah satu kelas dari alga yang memiliki pigmen berwarna merah (Marianingsih, 2013: 219). Salah satu jenis dari alga merah ini ialah *Eucheuma spinosum*.

Eucheuma spinosum merupakan salah satu dari jenis alga merah yang banyak dibudidayakan di Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan. Alga merah telah lama digunakan oleh manusia baik itu sebagai sumber makanan, pakan, pupuk bahkan obat-obatan seperti penurun panas, batu empedu, gangguan ginjal dan gangguan perut (Singkoh, 2011: 123). Alga merah mampu menghasilkan bahan aktif metabolit untuk melindungi diri dari serangan berbagai penyakit maupun predator. Potensi metabolit

sekunder bioaktifnya telah terbukti memiliki aktivitas biologis yang menarik dengan antivirus, antijamur, antibakteri dan antiinflamasi (Srikong, 2015: 39-40). Metabolit primernya disebut sebagai senyawa *phycolloid* seperti karaginan, agar dan alginat. Metabolit primer yang lainnya adalah polisulfat polisakarida seperti laminaran, rhamnan sulfat, galaktosil gliserol dan fusioidan sebagai antioksidan, antialergi, anti HIV, antikanker dan antikoagulan. Selain itu, senyawa metabolit sekunder yang disintesis oleh alga merah yaitu karotenoid, polifenol, terpenoid, xantofil dan alkaloid (Kasanah dkk, 2015: 201).

Metabolit primer dan metabolit sekunder yang dimiliki oleh alga merah *Eucheuma spinosum* ini memiliki banyak manfaat baik itu dalam bidang ekonomi maupun dalam bidang kesehatan. Manfaat dari alga merah ini merupakan hasil laut yang memberikan peluang kepada manusia untuk dapat menikmati manfaat dari kekayaan laut bagi kehidupan. Sebagaimana Allah berfirman dalam QS An-Nahl/16: 14.

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ

Terjemahnya:

“Dan Dialah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya, dan (dari lautan itu) kamu mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai. Kamu (juga) melihat perahu berlayar padanya, dan agar kamu mencari sebagian dari karunia-Nya dan agar kamu bersyukur”.

Menurut Tafsir *Al-Misbah*, sebagaimana firman Allah swt bahwa Dia, yakni Allah swt yang menundukkan lautan dan sungai serta menjadikannya arena hidup binatang dan tempatnya tumbuh berkembang serta pembentukan aneka perhiasan. Allah menciptakan semua itu agar kamu dapat menangkap hidup-hidup atau yang mengapung dari ikan-ikan dan sebangsanya yang berdiam disana sehingga kamu dapat

memakan darinya daging yang segar, yakni binatang-binatang laut itu dan kamu dapat mengeluarkan, yakni dari laut dan sungai itu perhiasan yang kamu pakai. Menurut Tafsir *Al-Azhar*, dalam membicarakan lautan dan ikannya, mutiara dan marjan, serta membicarakan kepentingan kapal, Tuhan telah menganjurkan memakai kesempatan mencari kurnia Tuhan dengan mempergunakan kapal itu. Sehingga menjadi muslim haruslah mempunyai keaktifan hidup. Mengembaralah, berlayarlah, berniagalah dan jadi nelayanlah.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT memberikan nikmatNya kepada makhlukNya yaitu manusia dengan menciptakan laut agar manusia dapat mengambil manfaat yang ada di dalam lautan. Tidak hanya nikmat keindahan yang dapat dilihat pada lautan, tetapi Allah juga menciptakan bermacam-macam ikan yang segar yang dapat diperoleh di dalam lautan untuk dapat dimanfaatkan dalam kebutuhan hidup sehari-hari. Selain dari ikan-ikan yang berada dalam lautan, Allah juga menjadikan lautan tersebut sebagai tempat tumbuhnya tumbuhan laut yang juga memiliki potensi yang besar untuk dimanfaatkan oleh manusia sebagai kebutuhan hidup baik itu dalam bidang ekonomi maupun bidang kesehatan. Salah satu contoh tumbuhan laut yang ada di dalam lautan yang diketahui memiliki potensi untuk dimanfaatkan ialah alga merah *Eucheuma spinosum*.

Eucheuma spinosum memiliki kandungan metabolit sekunder yang dapat dijadikan sebagai antibakteri. Penggunaan antibakteri ini mampu menghambat bakteri yang ada. Oleh karena itu, penemuan dan pengembangan penelitian mengenai antibakteri merupakan salah satu hal yang penting untuk dilakukan. *Eucheuma spinosum* merupakan salah satu dari jenis alga merah yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

Antibakteri merupakan zat yang membunuh bakteri atau menekan pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Prima, 2012: 21). Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme ini bertujuan untuk mencegah penyakit dan adanya infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan bahan oleh mikroorganisme (Basuki, 2009: 16).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* dapat dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Dasar pengamatannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambat di sekeliling kertas cakram yang berisi zat antibakteri. Uji potensi zat antibakteri bertujuan untuk mengetahui kekuatan antibakteri sampel bila dibandingkan dengan zat pembanding yaitu antibiotik lain (Respati, 2010: 5).

Salmonella thypi dan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang menjadi penyebab infeksi. *Salmonella* merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora dan panjangnya bervariasi, bentuk batang lurus dengan ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm . *Salmonella* patogen terhadap manusia atau binatang apabila masuk melalui mulut sehingga dapat menimbulkan demam tifoid (Respati, 2010: 19-20) sedangkan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri non patogen yang termasuk bakteri gram positif yang dapat menyebabkan penyakit bakteremia (Samiullah dan Bano, 2011 dalam Purnama, 2013: 3).

Keberadaan makhluk hidup (mikroorganisme) telah dijelaskan Allah di dalam Al-Qur'an tentang kerajaanNya Yang Maha Besar dan kekuasaanNya yang meliputi segala sesuatu dan bahwasanya Dia telah menciptakan berbagai ragam makhluk yang berbeda-beda bentuk, rupa, gerak dan pada hakikatnya Dia telah menciptakan semua jenis hewan dari air. Sebagaimana Allah swt berfirman dalam QS An-Nur/24: 45.

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ ۖ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ ۚ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي
عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ ۚ تَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۚ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ
شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٥٥﴾

Terjemahnya:

“Dan Allah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki, sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang Dia kehendaki. Sungguh, Allah Mahakuasa atas segala sesuatu”.

Menurut tafsir *Ibnu Katsir*, pada ayat ini Allah menjelaskan kekuasaanNya yang sempurna dan kekuatanNya yang Agung dalam menciptakan berbagai jenis makhluk dengan beragam bentuk, warna, gerak dan diamnya dengan bahan baku berasal dari satu jenis air. “Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya”, seperti ular dan binatang lain yang sejenis. “Dan sebagian (yang lain) berjalan dengan dua kaki”, seperti manusia dan burung. “Sebagian (lagi) berjalan dengan empat kaki”, seperti binatang-binatang ternak dan hewan-hewan lainnya. Oleh sebab itu Allah berfirman, “Allah menciptakan apa yang Dia kehendaki” dengan kekuasaanNya, apapun yang Dia kehendaki pasti terwujud dan segala yang tidak Dia kehendaki pasti tidak pernah terbukti.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah swt menciptakan makhluk dengan beragam bentuknya, warna dan gerak. Sebagaimana keberadaan bakteri yang merupakan salah satu bukti kekuasaan dan kehendak Allah swt. Bakteri merupakan makhluk mikroskopik yang tidak dapat dilihat dengan mata namun dapat dilihat dengan mikroskop serta memiliki bentuk dasar yang berbeda-beda baik itu bulat, batang dan spiral. Alat gerak berupa *flagellum* atau bulu cambuk yang digunakan bakteri menuju kondisi lingkungan yang menguntungkan dan menghindari dari lingkungan yang merugikan bagi kehidupannya.

Infeksi yang disebabkan bakteri *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis* dapat dicegah atau diobati dengan mengambil bahan dari alam sebagai pencegahannya. Badan kesehatan dunia juga telah merekomendasikan penggunaan dan pencegahan penyakit dengan menggunakan bahan dari alam ini karena merupakan cara alternatif yang dapat digunakan (Alamsyah dkk, 2014: 70).

Pemanfaatan bahan alam sebagai antibakteri dilakukan dengan ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen/zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip ekstraksi ialah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Ekstraksi dapat dilakukan dengan menggunakan cara maserasi yaitu dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan ialah yang bersifat polar (etanol) dan non polar (kloroform) (Prima, 2012: 7-8).

Berdasarkan penelitian Hanapi, dkk (2013), tentang uji aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memiliki daya hambat pada konsentrasi 80 mg/mL secara berturut-turut sebesar 4 mm dan 3 mm. Berdasarkan penelitian Dwyana, dkk (2013) tentang uji daya hambat ekstrak kasar alga merah *Eucheuma cottoni* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*, ekstrak etanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi 0,1% dan 0,5%, diameter daya hambat terbesar pada *Staphylococcus aureus* adalah 10,5 mm sedangkan *Salmonella thypi* pada konsentrasi 1,5% diameter daya hambatnya sebesar 8,75 mm. Ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan *Eucheuma cottoni* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi* mampu menghambat bakteri yang ada sehingga dapat dijadikan sebagai antibakteri.

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan di atas maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis*.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform dengan variasi konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Salmonella typhi*?
2. Berapa daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform dengan variasi konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Bacillus subtilis*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform dengan variasi konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
2. Untuk mengetahui daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform dengan variasi konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi bahwa alga merah *Eucheuma spinosum* memiliki senyawa metabolit sekunder yang dapat dijadikan sebagai antibakteri.
2. Dapat dijadikan sebagai rujukan referensi untuk penelitian selanjutnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Alga Merah Eucheuma spinosum

Di perairan Indonesia terdapat 555 jenis rumput laut yang tumbuh, sekitar 55 jenis diantaranya telah digunakan penduduk sebagai makanan. Diantara 55 jenis tersebut adalah *Eucheuma spinosum* dan *Eucheuma cottonii* yang banyak dibudidayakan di perairan di Bali (Nusa Penida), Takalar (Sulawesi Selatan) dan Madura (Sumenep) (Diharmi dkk, 2011: 61).

Eucheuma spinosum merupakan rumput laut dari kelompok *Rhodopyceae* (alga merah) (Alam, 2011: 11). *Eucheuma spinosum* mempunyai *thallus* yang berwarna kuning kecoklat-coklatan sampai merah keungu-unguan, berbentuk agak pipih dan bercabang-cabang tidak beraturan. Percabangan yang terjadi pada genus ini adalah dua (*dichotome*) atau tiga (*trichotome*) buah. Ciri khusus secara morfologis, jenis ini memiliki duri-duri yang tumbuh berderet melingkari *thallus* dengan interval yang bervariasi sehingga terbentuk ruas-ruas *thallus* diantara lingkaran duri. Percabangan berlawanan atau berselang-seling dan timbul teratur pada deretan duri antar ruas dan merupakan perpanjangan dari duri tersebut. Ujung percabangan mudah melekat pada substrat (Hijaz, 2009: 29-30).



Gambar 2.1 Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Menurut Anggadiredja dkk (2006) dalam Hijaz (2009: 30), klasifikasi alga merah jenis *Eucheuma spinosum* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Filum : Rhodophyta
 Kelas : Rhodophyceae
 Famili : Soliereceae
 Genus : *Eucheuma*
 Spesies : *Eucheuma spinosum*

Eucheuma spinosum tumbuh melekat pada rataaan terumbu karang, batu karang, batuan, benda keras dan cangkang kerang. *Eucheuma spinosum* memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis sehingga hanya hidup pada lapisan fotik. Habitat khas dari *Eucheuma* adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap, lebih menyukai variasi suhu harian yang kecil dan substrat batu karang mati (Alam, 2011: 7-8).

Eucheuma spinosum merupakan salah satu alternatif untuk meningkatkan pendapatan petani atau nelayan serta pemanfaatan lahan di pesisir pantai. *Eucheuma*

spinosum memiliki nilai ekonomis penting sebagai komoditas hasil perikanan yang sumber utama penghasil agar-agar, alginat dan karagenan. Alga merah jenis ini banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, kosmetik, farmasi dan industri lainnya seperti industri kertas, tekstil, fotografi dan pengalengan ikan (Abdan dkk, 2013: 113-114). Selain itu, alga merah juga mampu menghasilkan metabolit sekunder bioaktifnya yang telah terbukti memiliki aktivitas biologis antibakteri (Srikong, 2015: 39-40).

Allah swt menyuruh kepada umat manusia untuk memikirkan penciptaan langit dan bumi serta menjaganya. Langit dan bumi merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah swt sebagai Sang Pencipta yang telah menciptakan makhluk hidup dan segala sesuatu yang meliputi langit dan bumi dengan tidak sia-sia. Sebagaimana Allah swt berfirman dalam QS. Al-Imran/3: 190-191.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي
الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ
فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا
عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Terjemahnya:

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Wahai Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka”.

Menurut Tafsir *Ibnu Katsir*, “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi”. Artinya, pada ketinggian dan luasnya langit serta kerendahan bumi dan kepadatannya. Apa yang ada pada keduanya berupa tanda-tanda kekuasaan Allah Yang Agung dan dapat disaksikan, berupa bintang-bintang, komet, daratan dan lautan, pegunungan, tanah gersang, pepohonan, tumbuh-tumbuhan, tanaman, binatang, buah-buahan, barang tambang, serta berbagai macam warna, aroma dan rasa. “*Ya Rabb*

kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia". Yakni, Engkau tidak menciptakannya sia-sia, tetapi dengan hak. Engkau akan memberikan balasan kepada mereka yang berbuat keburukan atas apa yang telah mereka kerjakan dan memberikan balasan yang baik kepada orang-orang yang berbuat kebaikan. Mereka menyucikan Allah dari perbuatan sia-sia dan penciptaan yang bathil dengan berkata, "*Mahasuci Engkau*". Yakni, dari menciptakan sesuatu yang sia-sia.

Ayat di atas menjelaskan bahwa penciptaan langit dan bumi merupakan tanda-tanda kekuasaan dari Allah swt. Salah satu dari tanda kekuasaanNya disini ialah tumbuh-tumbuhan yang berada di dalam lautan yakni salah satunya ialah alga merah *Eucheuma spinosum*. Alga merah *Eucheuma spinosum* ini memiliki banyak manfaat bagi kehidupan makhluk Allah di muka bumi ini. Sebagaimana Allah telah mengatakan bahwa Dia tidak menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini dengan sia-sia dan Dia tidak akan menciptakan sesuatu yang sia-sia.

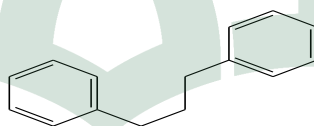
B. Metabolit Sekunder Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Metabolit sekunder adalah suatu molekul atau produk metabolik yang dihasilkan oleh proses metabolisme sekunder mikroorganisme, dimana produk metabolik tersebut bukan merupakan kebutuhan pokok mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh. Meskipun tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan, namun metabolit sekunder dapat juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup. Fungsi metabolit sekunder bagi mikroorganisme penghasil itu sendiri sebagian besar belum jelas. Metabolit sekunder dibuat dan disimpan secara ekstraseluler. Metabolit sekunder banyak bermanfaat bagi manusia dan makhluk hidup lain karena banyak diantaranya bersifat sebagai obat, pigmen, vitamin ataupun hormon (Pratiwi, 2008:129-130).

Alga merah dikenal sebagai sumber bioaktif metabolit sekunder. Senyawa bioaktif dalam alga merah ini digunakan secara luas dalam farmasi. Zat bioaktif yang

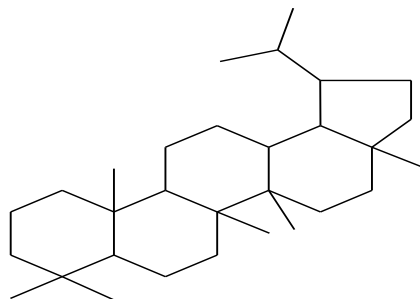
diisolasi dari alga merah ini termasuk alkaloid, poliketida, peptida siklik, polisakarida, phlorotannins, diterpenoid, sterol, *quinines*, lipid dan gliserol (Srikong dkk, 2015: 40). Kandungan golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak petroleum eter alga merah *Eucheuma spinosum* adalah flavonoid, triterpenoid, alkaloid dan asam askorbat (Mardiyah, 2014: 39).

Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa terbesar dalam golongan fenolik alam. Senyawa flavonoid memiliki sifat sebagai pereduksi yang baik yaitu zat yang mengalami oksidasi, dapat menghambat banyak reaksi enzimatik. Flavonoid bertindak sebagai penangkal yang baik terhadap radikal hidroksi dan superoksida, dengan demikian melindungi lipid terhadap reaksi-reaksi yang memberi efek buruk. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton dan air.



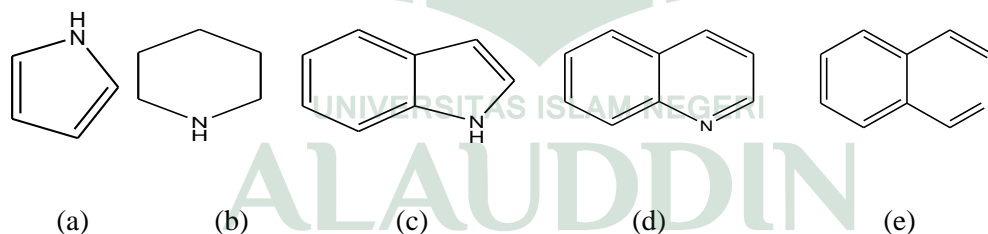
Gambar 2.2. Struktur Dasar Flavonoid (Ilyas, 2013: 73-74).

Triterpen (C_{30}) adalah kelompok senyawa terpen yang lebih besar dengan jumlah unit isopren sebanyak enam dan memberikan sejumlah aktivitas biologis yang penting. Banyak senyawa triterpen yang ditemukan memiliki ciri khas, misalnya asam ursolat (dengan kerangka dasar ursan) dan asam oleanolat (dengan kerangka dasar olean). Senyawa ini dan juga senyawa-senyawa lain yang berkerabat (kelompok senyawa terpenoid) biasanya terdapat pada lapisan lilin daun dan buah seperti apel dan pir yang berfungsi sebagai pelindung dari serangga dan serangan mikroba.



Gambar 2.3. Struktur Dasar Triterpen (Ilyas, 2013: 37-38).

Alkaloid didefinisikan sebagai senyawa basa organik yang disintesis oleh organisme hidup, yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen heterosiklik, berasal dari asam amino (dengan beberapa pengecualian) dan farmakologi aktif. Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder yang sangat besar dengan jumlah lebih dari 12.000 zat terisolasi. Berbagai macam rumus struktur, berasal dari jalur biosintesis yang berbeda dan menyajikan aktivitas farmakologi sangat beragam yang merupakan ciri khas dari kelompok ini.



Gambar 2.4. Struktur Dasar Alkaloid, (a) pirolidin, (b) piperidin, (c) indol, (d) kuinolin dan (e) isokuinolin (Ilyas, 2013: 141).

Senyawa metabolit sekunder ini merupakan kelompok bahan alam yang sangat beragam, yang disintesis oleh tumbuhan, jamur, bakteri, alga dan hewan. Beberapa fungsi utama dari metabolit sekunder yaitu: (1). Perlindungan terhadap serangan mikroba (fitoaleksin); metabolit sekunder sebagai senyawa pertahanan yang dapat diinduksi dengan struktur yang bermacam-macam dan disintesis di sekitar sel yang terinfeksi mikroba. (2). Perlindungan terhadap serangan atau gangguan herbivora;

umumnya bersifat konstitutif dan merupakan pestisida alami pada tumbuhan yang dapat mencapai 10% berat kering. (3). Perlindungan terhadap gangguan lingkungan; proteksi terhadap UV (antosianin) dan osmoproteksi (prolin, glisin dan betain). (4). Agen alelopati; menghambat pertumbuhan tanaman di sekitarnya (fungsi kompetisi). (5). Menarik serangga pollinator dan hewan herbivora untuk membantu pembuahan dan penyebaran biji (Ilyas, 2013: 5).

Aktivitas biologis pada senyawa flavonoid dalam potensinya sebagai antibakteri, diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Flavonoid juga bersifat lipofilik (sifat senyawa organik nonpolar yang lebih menyukai lemak dan pelarut organik daripada air) yang akan merusak membran mikroba. Flavonoid mengandung suatu senyawa fenol. Pertumbuhan bakteri dapat terganggu disebabkan senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Kondisi asam oleh adanya fenol dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri (Rahayu, 2000 dalam Dwyana, 2013: 5).

Menurut Mubarak (1982) dalam Hijaz (2009: 31), komposisi nilai nutrisi alga merah *Eucheuma spinosum* terdapat dalam tabel di bawah ini:

Tabel 2.1 Komposisi Nilai Nutrisi Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Komponen	Jumlah
Kadar air (%)	12,90
Karbohidrat (%)	5,12
Protein (%)	0,13
Lemak (%)	13,38
Serat kasar (%)	1,39
Abu (%)	14,21
Mineral: Ca (ppm)	52,820
Fe (ppm)	0,0108
Cu (ppm)	0,769
Pb (ppm)	-
Vitamin B ₁ (Thiamin) (mg/100 g)	0,21
Vitamin B ₂ (Riboflavin) (mg/100 g)	2,26

Vitamin C (mg/100 g)	43,00
Karaginan (%)	65,75

(Mubarak, 1982 dalam Hijaz, 2009: 31)

C. Ekstraksi

Senyawa bioaktif seberapa besar diperoleh dari sumber alami. Penentuan fitokimia dari sampel padat, maka beberapa langkah yang runut umumnya diperlukan dan jika salah satu dari langkah tersebut tidak diikuti dengan benar, secara keseluruhan kinerja analisis akan menjadi tidak maksimal, terjadi kesalahan dan akibatnya terjadi inkonsistensi dari hasil yang diharapkan. Salah satu prosedur penting dalam langkah ini adalah ekstraksi dari analit sasaran (Haeria, 2014: 15).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan yang didasarkan pada perpindahan massa komponen kimia yang terdapat dalam sampel bahan alam ke dalam pelarut. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut ke dalam pelarutnya (Ilyas, 2013: 2). Terdapat beberapa teknik ekstraksi padat-cair yang tersedia. Teknik ekstraksi yang paling umum digunakan adalah teknik konvensional dengan cara perendaman, ekstraksi soxhlet dan destilasi. Pemilihan salah satu dari metode ini tergantung pada kondisi proses seperti suhu, mekanik (seperti tekanan dan getaran) dan jenis pelarut (Haeria, 2014: 18).

Ragam ekstraksi yang tepat sudah tentu bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi. Umumnya perlu “membunuh” jaringan tumbuhan untuk mencegah terjadinya oksidasi enzim atau hidrolisis. Mencemplungkan untuk mencegah terjadinya oksidasi enzim atau hidrolisis. Mencemplungkan jaringan daun segar atau bunga, bila perlu dipotong-potong ke dalam etanol mendidih adalah suatu cara yang baik untuk mencapai tujuan. Mengisolasi senyawa dari jaringan hijau, keberhasilan ekstraksi dengan alkohol berkaitan langsung dengan seberapa jauh klorofil tertarik

oleh pelarut itu. Bila ampas jaringan pada ekstraksi ulang sama sekali tak berwarna hijau lagi, dapat dianggap semua senyawa berbobot molekul rendah telah terekstraksi (Harborne, 1987: 6).

D. Bakteri

Nama bakteri berasal dari kata “*bakterion*” (Bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Sekarang nama itu dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme yang bersel satu, tidak berklorofil, berkembang biak dengan pembelahan diri serta demikian kecilnya sehingga hanya tampak dengan mikroskop (Dwidjoseputro, 1990 dalam Silaban, 2009: 25).

Ada beberapa bentuk dasar bakteri, yaitu bulat (tunggal: *coccus*, jamak: *cocci*), batang atau silinder (tunggal: *bacillus*, jamak: *bacilli*) dan spiral yaitu berbentuk batang melengkung atau melingkar-lingkar. *Bacillus subtilis* dan *Salmonella thypi* merupakan bakteri yang berbentuk *Bacilli*. *Bacilli* membelah hanya melalui sumbu pendeknya (dalam satu bidang). Sebagian besar *Bacilli* tampak sebagai batang tunggal, *diplobacilli* muncul dari pasangan *Bacilli* setelah pembelahan dan *streptobacilli* muncul dalam bentuk rantai. Beberapa *Bacilli* tampak menyerupai *cocci* dan disebut *coccobacilli*. Bentuk dan ukuran suatu bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperatur inkubasi, umur kultur dan komposisi media pertumbuhan (Pratiwi, 2008: 22-24)

Secara umum ada dua faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu faktor abiotik (faktor yang berasal dari alam semesta yang tidak hidup) dan zat hara sebagai nutrisi yang sesuai untuk pertumbuhan optimum. Termasuk dalam faktor lingkungan adalah (1). Suhu, pada umumnya bakteri tumbuh pada suhu 37 °C, untuk setiap spesies ada batasan suhu maksimum dan minimum untuk pertumbuhan. Beberapa kelompok bakteri menurut suhu optimum yaitu psikrofil (bakteri dapat

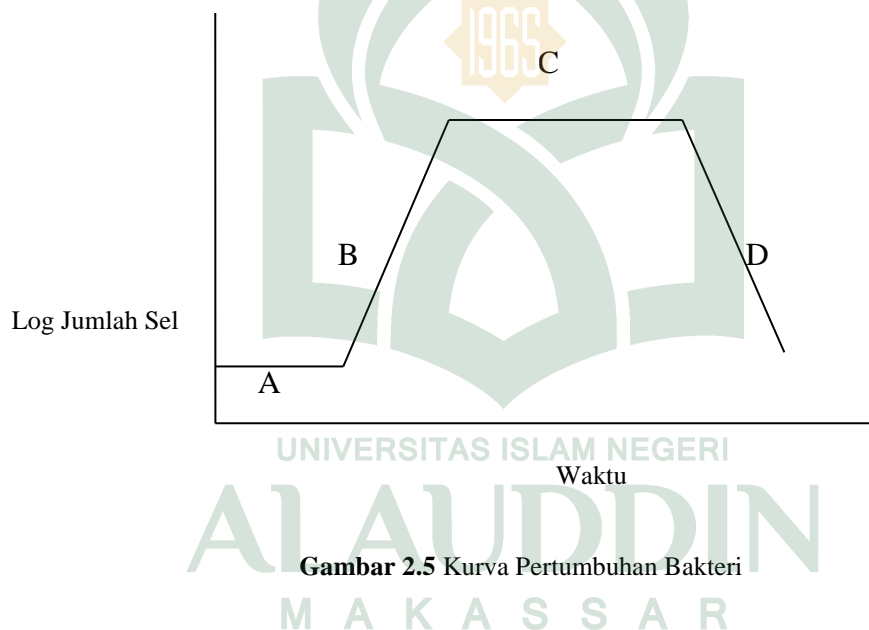
tumbuh pada suhu 5-30 °C, mesofil (bakteri tumbuh pada suhu 15-50 °C dan termofil (bakteri dapat tumbuh pada suhu 50-60 °C) (Lay dan Hastowo, 1992 dalam Silaban, 2009: 27). (2). pH, merupakan indikasi konsentrasi ion hidrogen. Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hidrogen dapat menyebabkan ionisasi gugus-gugus dalam protein, amino dan karboksilat. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu pertumbuhan sel (Pratiwi, 2008: 112). (3). Oksigen, bakteri dibagi dalam 3 kelompok menurut keperluannya akan oksigen yaitu aerob obligat (bakteri yang memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya), anaerob obligat (bakteri yang hanya dapat tumbuh bila tidak ada oksigen) dan fakultatif anaerob (bakteri yang dapat tumbuh dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen) (Lay dan Hastowo, 1992 dalam Silaban, 2009: 28). (4). Osmosis merupakan perpindahan air melewati membran semipermeabel karena ketidakseimbangan material terlarut dalam media. Dalam larutan hipotonik (konsentrasi zat terlarut lebih rendah dibagian luar sel) air akan masuk ke dalam sel mikroorganisme, sedangkan dalam larutan hipertonik (konsentrasi zat terlarut tinggi di sel dalam) air akan keluar dari dalam sel mikroorganisme sehingga membran plasma mengkerut dan lepas dari dinding sel (plasmolisis), serta menyebabkan sel secara metabolik tidak aktif (Pratiwi, 2008: 112).

Faktor kimia yang mempengaruhi pertumbuhan dari bakteri adalah komponen-komponen kimia atau nutrisi dan media kultur. (1). Nutrisi merupakan substansi yang diperlukan untuk biosintesis dan pembentukan energi. Berdasarkan kebutuhannya, nutrisi dibedakan menjadi dua yaitu makroelemen yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah banyak (gram) dan mikroelemen yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah sedikit (dalam takaran mg hingga ppm). Makroelemen meliputi karbon (C), oksigen (O), hidrogen (H), nitrogen (N), sulfur (S), fosfor (P), kalium (K), magnesium (Mg), kalsium (Ca) dan besi (Fe). Mikroelemen meliputi

mangan (Mn), zink (Zn), kobalt (Co), molibdenum (Mo), nikel (Ni) dan tembaga (Cu).

(2). Media kultur merupakan bahan nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium. Berdasarkan konsistensinya, media dikelompokkan menjadi dua macam, yaitu media cair (*liquid media*) yaitu media yang tidak mengandung agar dan media padat (*solid media*) yaitu media yang mengandung agar (Pratiwi, 2008: 115-116).

Fase pertumbuhan bakteri menurut Jawets, dkk (1996) dalam Silaban (2009: 28-29) ialah sebagai berikut:



Gambar 2.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri

(1). Fase Log Penyesuaian (A) merupakan suatu masa dimana sel-sel, yang kekurangan metabolit dan enzim akibat keadaan yang tidak menguntungkan dalam pembiakan terdahulu, menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang baru. Pada fase ini tidak ada kenaikan dari jumlah sel, melainkan peningkatan ukuran atau besar sel. Enzim-enzim dan zat antara terbentuk dan terkumpul sampai mencapai konsentrasi yang memungkinkan pertumbuhan dimulai lagi. (2). Fase Eksponensial (B), fase ini terjadi setelah sel bakteri menyesuaikan diri terhadap lingkungannya. Pada fase ini, sel

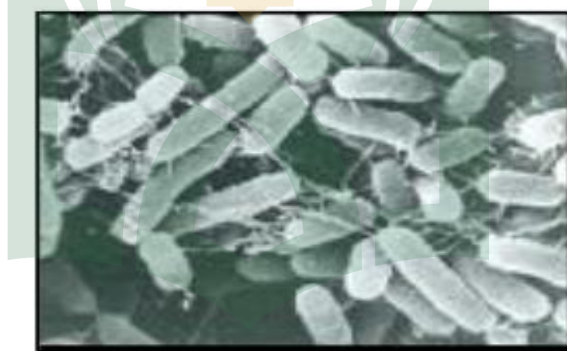
baru terbentuk dengan laju yang konstan tetapi bahan yang baru itu sendiri bersifat katalis sehingga sel bakteri bertumbuh secara eksponensial, massa menjadi dua kali lipat. (3). Fase Stasioner (C), pada fase ini terjadi kehabisan zat makanan atau penumpukan hasil-hasil metabolisme yang beracun yang menyebabkan pertumbuhan bakteri berhenti. Namun kecepatan tumbuh sama dengan kecepatan mati sehingga jumlah sel akan konstan. (4). Fase Kematian (D), pada fase ini terjadi akumulasi bahan toksik, zat hara yang diperlukan oleh mikroorganisme juga berkurang, sehingga bakteri mati. Fase ini merupakan kebalikan dari fase eksponensial pertumbuhan. Jumlah sel menurun terus sampai didapatkan jumlah sel yang konstan untuk beberapa waktu.

Menurut Hifizah (2012: 57), bakteri dapat dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan komponen penyusun dan struktur dinding sel yang dimilikinya yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Pengelompokan ini didasari teknik pewarnaan diferensial yang disebut pewarnaan gram. (1). Bakteri gram positif, bakteri gram positif dinding selnya terdiri atas 60-100 % peptidoglikan (substansi yang membentuk dinding sel bakteri yang terdiri dari asam amino dan gula) dan semua bakteri gram-positif memiliki polimer lurus asam N-asetil muramat dan juga N-asetil glukosamin. Dinding sel beberapa gram positif mengandung substansi asam teikoat (polimer dari ribitol fosfat atau gliserol fosfat yang terdapat pada dinding sel bakteri) yang dikaitkan pada asam muramat dari lapisan peptidoglikan. Asam teikoat ini berwujud dalam dua bentuk utama yaitu asam teikoat ribitol dan asam teikoat gliserol (terikat pada membran sel satu ujungnya berasosiasi dengan lipid dalam membran). Fungsi dari asam teikoat adalah mengatur pembelahan sel normal. Apabila diberi pewarna gram menghasilkan warna ungu. (2). Bakteri gram negatif, dinding sel gram negatif mengandung 10-20 % peptidoglikan, di luar lapisan peptidoglikan ada struktur

membran yang tersusun dari protein dan lipopolisakarida. Apabila bakteri diberi pewarna gram menghasilkan warna merah.

1. *Salmonella thypi*

Salmonella thypi berbentuk batang lurus dengan ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora dan mempunyai flagel peritrikh. Bakteri ini tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15-41 $^{\circ}\text{C}$ (suhu pertumbuhan optimum 37,5 $^{\circ}\text{C}$) dan pH pertumbuhan 6-8. *Salmonella thypi* dapat mati pada suhu 56 $^{\circ}\text{C}$ juga pada keadaan kering sedangkan dalam lingkungan air dapat bertahan selama 4 minggu (Respati, 2010: 19-20). Morfologi *Salmonella thypi* adalah sebagai berikut:



Gambar 2.6 *Salmonella thypi*

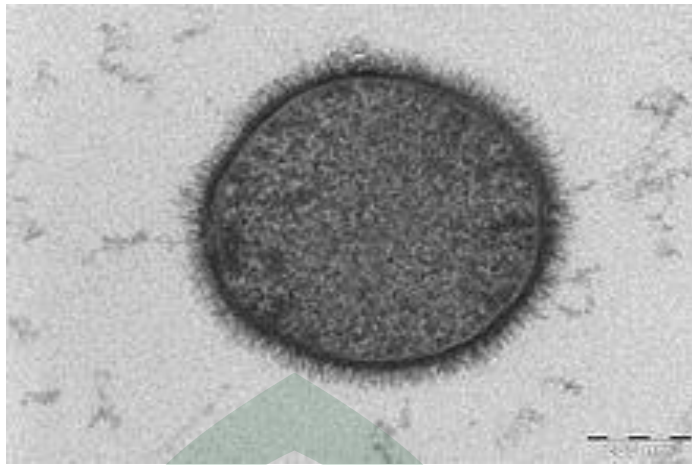
Menurut Salle (1961) dalam Respati (2010: 20), klasifikasi *Salmonella thypi* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomyce
Ordo	: Eubacteriale
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella thypi</i>

Salmonella thypi kerap kali patogen terhadap manusia atau binatang apabila masuk melalui mulut, ditularkan dari binatang dan produk binatang kepada manusia sehingga dapat menimbulkan demam tifoid. Bakteri ini memiliki 3 macam antigen yaitu antigen O (somatik berupa kompleks polisakarida), antigen H (flagel) dan antigen Vi. Antigen O tahan terhadap pemanasan 100 °C, alkohol dan asam sedangkan antigen H rusak pada pemanasan 60 °C, alkohol dan asam. Antigen Vi merupakan polimer dari polisakarida yang bersifat asam bagian yang paling luar kuman, dapat dirusak pada pemanasan 60 °C dengan penambahan fenol dan asam. Serum penderita demam tifoid akan terbentuk antibodi terhadap ketiga macam antigen tersebut. Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut yang biasanya terdapat pada saluran pencernaan dengan gejala demam yang lebih dari 7 hari, gangguan pada saluran pencernaan dengan atau tanpa gangguan kesadaran (Jawets, 1986 dalam Respati 2010: 20).

2. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis adalah salah satu bakteri yang bersifat termofilik fakultatif (Kosim dan Putra, 2010: 1). Bakteri ini merupakan bakteri gram positif berbentuk batang, bersifat aerobik serta dapat menghasilkan endospora (Sopyan, 2009: 1). *Bacillus subtilis* adalah bakteri antagonis yang dapat ditemukan di air, tanah, udara dan residu tanaman yang telah membusuk (Abidin dkk, 2015: 2).



Gambar 2.7 *Bacillus subtilis*

Menurut Frankland & Frankland (1887) dalam Prima (2012: 15), klasifikasi *Bacillus subtilis* ialah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Famili	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i>

Bacillus subtilis termasuk bakteri gram positif, berbentuk batang, dapat tumbuh pada kondisi aerob dan anaerob. Bakteri tersebut dapat membentuk endospora dan dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhannya (Khaeruni dkk, 2013: 144-145).

Bukti-bukti tentang penciptaan alam semesta termasuk di dalamnya seluruh makhluk hidup di muka bumi baik yang dapat dilihat dengan mata maupun yang dapat dilihat dengan mikroskop (mikroorganisme) tercantum dalam Al-Qur'an, sebagaimana Allah berfirman dalam QS Al-Furqan/25:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Terjemahnya:

“Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat”.

Menurut Tafsir *Al-Misbah*, Allah adalah penguasa Tunggal yang telah menciptakan segala sesuatu yang kemudian menetapkan ukuran-ukuran yang sesuai dengan masing-masing ciptaanNya, menetapkan ukuran serapi-rapinya sehingga semua makhluk berpotensi melaksanakan fungsi-fungsi yang harus diembannya dengan teratur dan sistematis. Menurut tafsir *Ibnu Katsir*, Allah membersihkan diriNya dari memiliki anak dan sekutu. Segala sesuatu selain Dia hanyalah ciptaanNya dan yang diurus olehNya sedangkan Allah Maha Pencipta segala sesuatu, sekaligus Rabb, sesembahan dan raja segala sesuatu. Semua makhluk berada di bawah kekuasaan, kendali, pengaturan dan ketentuanNya.

Ayat di atas dijelaskan bahwa Allah menciptakan sesuatu dengan ukuran tertentu, bentuk, rupa, cara dan substansi tertentu. Sebagai orang yang beriman, harus meyakini akan adanya Allah sebagai sang pencipta, meyakini bahwa seluruh makhluk baik di langit dan di bumi, baik yang berukuran besar maupun kecil bahkan sampai mikroorganisme yang tidak dapat terlihat dengan mata telanjang juga adalah makhluk ciptaan Allah SWT.

E. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi. Berdasarkan cara kerja antibakteri dibedakan menjadi bakteriosidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang

dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakteriosidal adalah zat yang bekerja yang mematikan bakteri. (Hudaya dalam Ali, 2014: 25).

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba, yaitu:

- (1). pH lingkungan. Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (misalnya nitrofurantoin), obat lainnya lebih aktif pada pH basa (misalnya, aminoglikosida, sulfonamida).
- (2). Komponen medium. Protein serum mengikat penisilin dalam berbagai derajat, berkisar dari 40% untuk metisilin sampai 98% untuk dikloksasilin. Penambahan NaCl ke medium meningkatkan deteksi resistensi metisilin pada *Staphylococcus aureus*.
- (3). Stabilitas obat. Pada suhu inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitasnya. Penisilin diinaktivasi secara lambat, sedangkan aminoglikosida dan siprofloksasin sangat stabil untuk jangka waktu lama.
- (4). Ukuran inokulum. Pada umumnya, semakin besar inokulum bakteri, semakin rendah kerentanan bakteri tersebut. Inhibisi pada populasi bakteri yang besar lebih lambat dan kurang sempurna dibandingkan pada populasi yang kecil. Selain itu, mutan yang resisten lebih mungkin timbul dalam populasi besar.
- (5). Lama inkubasi. Pada banyak keadaan, mikroorganisme tidak dimatikan tetapi hanya dihambat dengan pajanan singkat ke agen antimikroba. Semakin lama inkubasi berlangsung, semakin besar kemungkinan mutan resisten timbul atau anggota antimikroba yang kurang rentan mulai memperbanyak diri seiring dengan berkurangnya obat.
- (6). Aktivitas metabolik mikroorganisme. Pada umumnya, organisme yang tumbuh secara aktif dan cepat, lebih rentan terhadap kerja daripada organisme dalam fase istirahat. Organisme tidak aktif secara metabolik yang bertahan terhadap pajanan obat dalam jangka lama dapat mempunyai keturunan yang benar-benar rentan terhadap obat yang sama (Jawets dalam Nuraina, 2015: 20).

Berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap bakteri, antibiotik dikelompokkan sebagai berikut: (1). Inhibitor yang merusak membran plasma. Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transpor berbagai metabolit ke dalam dan ke luar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau bahkan merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran. Contohnya polimiksin B, amfoterisin B, mikonazol dan ketokonazol (Pratiwi, 2008: 156-157). (2). Inhibitor sintesis protein bakteri, memiliki efek bakterisidal atau bakteriostatik dengan cara mengganggu sintesis protein tanpa mengganggu sel-sel normal dan menghambat tahap-tahap sintesis protein (Febiana, 2012: 22). (3). Menghambat sintesa folat, mekanisme kerja ini terdapat pada obat seperti sulfonamida dan trimetoprim. Bakteri tidak dapat mengabsorpsi asam folat, tetapi harus membuat asam folat dari PABA (asam paraaminobenzoat), pteridin, dan glutamat, sedangkan pada manusia, asam folat merupakan vitamin dan tidak dapat mensintesis asam folat. Hal ini menjadi suatu target yang baik dan selektif untuk senyawa-senyawa antimikroba (Febiana, 2012: 23). (4). Mengubah permeabilitas membran sel, memiliki efek bakteriostatik dan bakteriosidal dengan menghilangkan permeabilitas membran dan oleh karena hilangnya substansi seluler menyebabkan sel menjadi lisis. Obat-obat yang memiliki aktivitas ini antara lain polimiksin, amfoterisin B, gramisidin, nistatin dan kolistin (Febiana, 2012: 24). (5) Menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA), penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Antibiotik yang termasuk sebagai penghambat sintesis asam nukleat ini adalah antibiotik golongan kuinolon dan rifampin (Pratiwi, 2008: 159).

Amoksisilin merupakan salah satu antibiotik sintetik turunan penisilin yang memiliki spektrum luas dimana aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif (Respati, 2010: 26). Amoksisilin merupakan antibiotik yang tahan terhadap asam tetapi tidak tahan terhadap penisilinase. Beberapa keuntungan penggunaan amoksisilin dibanding ampisilin adalah absorpsi obat dalam saluran cerna lebih sempurna, sehingga kadar amoksisilin dalam darah lebih tinggi. Amoksisilin sering digunakan untuk pengobatan infeksi saluran pernafasan, saluran empedu, meningitis dan infeksi karena *Salmonella* sp, seperti demam tifoid. Efek terhadap *Bacillus dysentery* lebih rendah dibanding ampisilin karena lebih banyak obat yang diabsorpsi oleh saluran cerna (Soekardjo, 2000 dalam Respati, 2010: 27).

F. Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian atau pengukuran kemampuan suatu antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dilakukan dengan metode difusi yaitu dengan metode sebagai berikut:

1. Metode Kertas Cakram (*disc diffusion*), digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008: 188).
2. E-Test. Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimal inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan *strip plastic* yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah tertinggi dan diletakkan pada permukaan

media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008: 188-189).

3. Metode sumur (*Cup-plate technique*). Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008: 189).

Penelitian yang dilakukan oleh Hanapi dalam uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol alga merah *Eucheuma spinosum* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram. Dasar pengamatan pada metode difusi cakram yaitu dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Hanapi, 2013: 126).

G. Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS)

Perkembangan teknologi instrumentasi menghasilkan alat yang merupakan gabungan dari dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling melengkapi, yaitu gabungan kromatografi gas dan spektrofotometri massa yang dapat memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif tentang susunan atom dan molekul dalam zat organik. Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing komponen molekul yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Respati, 2010: 16).

Dalam spektroskopi massa, molekul-molekul ditembak dengan berkas elektron berenergi tinggi dan hasilnya direkam seperti spektrum dan pecahan (fragmen-fragmen) ion bermuatan positif. Sebenarnya, ion bermuatan negatif juga dihasilkan,

tetapi perbandingannya dengan ion bermuatan positif sangat rendah, yaitu 1:1000, sehingga dapat diabaikan. Jika suatu molekul ditembak dengan elektron berenergi tinggi, maka akan dihasilkan suatu ion molekular atau kation radikal. Spektroskopi massa berguna untuk menjelaskan struktur molekular senyawa biologis. Penggunaan utama spektroskopi massa dalam bidang biokimia adalah untuk menentukan struktur kimia dan karena itu dapat mengidentifikasi senyawa, serta analisis kualitatif sejumlah kecil molekul organik kompleks (Bintang, 2010: 198-199).

Pada kebanyakan senyawa, sebagian kecil dari senyawa induk tahan terhadap proses penguapan dan akan direkam sebagai puncak ion molekul atau ion induk. Lalu, massa ion induk dan ion lainnya dapat diukur dengan sangat tepat. Ketepatannya sedemikian rupa sehingga dapat menunjukkan rumus molekul senyawa secara tepat dan dengan demikian analisis unsur yang lazim (yang biasanya memerlukan mg senyawa) tidak diperlukan lagi (Harborne, 1987: 28).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2016 di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

B. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu spektrofotometer *GC-MS Agilent GC Tipe 7890 A MS Tipe 5975*, inkubator (*Thermo Scientific Heraeus Incubator*), autoclave (*Astell*), shaker waterbath (*Thermo Scientific MaxQ 7000*), Rotary Vacuum Evaporator (*Herdolph*), laminary flow (*ESCO Laminar Flow Cabinet*), timbangan analitik, oven (*Mammert*), lemari asam, lemari pendingin, mikropipet 1000 μL , jangka sorong, Erlenmeyer 100 mL dan 250 mL, gelas kimia 100 mL dan 250 mL pipet skala 1 mL, lumpang dan alu, tabung reaksi, kawat ose, cawan petri, rak tabung, corong, toples, *hotplate*, pinset, spatula dan botol semprot.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu alga merah *Eucheuma spinosum*, alkohol 70%, aluminium foil, amoksisilin, aquades (H_2O), etanol 96%, kertas cakram, kertas saring, label, kloroform teknis, Nutrien Agar (NA), NaCl fis 0,9%, dan Nutrien Broth (NB).

C. Prosedur Kerja

Prosedur kerja pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Pembuatan Media Bakteri Uji

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan distrerilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilisasi di dalam oven pada suhu 170 °C selama 1 jam (sterilisasi kering) sedangkan media disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit (sterilisasi basah).

b. Pembuatan media Nutrien Agar (NA)

Media NA ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dilarutkan dalam 200 mL aquades. Selanjutnya, media NA disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.

c. Pembuatan media Nutrien Broth (NB)

Media NB ditimbang sebanyak 0,2 gram kemudian dilarutkan dalam 25 mL aquades. Selanjutnya, media NB disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.

2. Ekstraksi Alga Merah *Eucheuma spinosum*

a. Preparasi Sampel

Alga merah *Eucheuma spinosum* dicuci dengan menggunakan air bersih kemudian dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan aquades. Setelah itu, dikeringkan di tempat yang tidak terkena matahari langsung selama 8 hari. Selanjutnya dihaluskan menggunakan mesin penggilingan hingga menjadi serbuk halus.

b. Ekstraksi Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dalam Berbagai Pelarut

Ekstraksi alga merah *Eucheuma spinosum* dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk halus alga merah *Eucheuma spinosum* ditimbang sebanyak 375 gram kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing toples. Setelah itu, serbuk halus direndam masing-masing dalam etanol 96% dan kloroform hingga terendam seluruhnya selama 3x24 jam. Setelah itu, disaring setiap 1x24 jam menggunakan

corong yang telah dilapisi kertas saring. Selanjutnya diuapkan dengan *Rotary Vacuum Evaporator*. Ekstrak kental alga merah *Eucheuma spinosum* disimpan dalam dua wadah yang berbeda (ekstrak wadah I diuapkan pada suhu ruang dan ekstrak wadah II diuapkan pada suhu oven pada suhu 40 °C selama 3 jam).

c. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Ekstrak *Eucheuma spinosum* ditimbang masing-masing sebanyak 0,02 gram; 0,04 gram dan 0,06 gram kemudian dilarutkan dalam 1 mL DMSO. Setelah itu dihomogenkan dengan menggunakan batang pengaduk. Ekstrak *Eucheuma spinosum* diperoleh dengan variasi konsentrasi 2 %, 4 % dan 6 % (b/v).

3. Peremajaan dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

a. Peremajaan Bakteri Uji

Biakan murni dari bakteri *Bacillus subtilis* dan *Salmonella thypi* diambil masing-masing sebanyak 2 ose kemudian ditumbuhkan atau diinokulasikan dengan cara digores pada media Nutrien Agar (NA) miring. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

b. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji disuspensikan dalam larutan media NB sebanyak 2 ose kemudian diinkubasi menggunakan *shaker water bath* selama 24 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya kekeruhan pada media diamati yang menandakan adanya perbanyakan sel bakteri.

4. Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Antibakteri

Amoksisilin ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dalam 5 mL NaCl fisiologis. Setelah itu, dihomogenkan menggunakan batang pengaduk. Kontrol negatif menggunakan aquades.

5. Pengujian Daya Hambat Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram. Media agar dituang ke dalam cawan petri steril. Setelah itu, suspensi bakteri dipipet sebanyak 1000 μL ke dalam media agar kemudian dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan berlawanan dengan arah jarum jam. Setelah itu didiamkan hingga memadat ± 1 jam. Selanjutnya, kertas cakram direndam dalam ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* pada konsentrasi 2%, 4% dan 6% dan kontrol positif serta kontrol negatif selama 1 jam. Setelah itu, kertas cakram diletakkan di atas media agar yang mengandung bakteri uji. Setelah itu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya zona bening (area bening) di sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui berapa daya hambat yang dihasilkan. Diameter zona hambat diukur dengan rumus:

$$Db - Dc$$

Keterangan:

Db: Diameter area bening

Dc: Diameter kertas cakram

6. Analisis Senyawa Menggunakan GC-MS

Ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* diambil sebanyak 1 mL kemudian dilarutkan dengan 1 mL etanol. Setelah itu sampel dimasukkan sebanyak 1 μL ke dalam kolom tipe HP-5 MS. Komponen-komponen yang terkandung pada ekstrak alga merah dibaca oleh detektor dan direkam oleh *recorder*. Hasil rekaman dari pembacaan grafik pada rentang waktu tertentu diidentifikasi. Pembacaan dicocokkan dengan literatur pada program GC-MS.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Alga merah *Eucheuma spinosum* diambil dari perairan Galesong Kabupaten Takalar. Dilakukan penarikan komponen senyawa pada alga merah *Eucheuma spinosum* dengan cara maserasi selama 3x24 jam kemudian evaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan pengujian daya hambat ekstrak terhadap bakteri. Hasil yang diperoleh ialah sebagai berikut.

1. Tabel Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Tabel 4.1 Warna Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Pelarut	Warna Ekstrak Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	
	Suhu Ruang	Suhu Oven
Etanol	Coklat Tua	Coklat Gelap
Kloroform	Coklat	Coklat Tua

2. Tabel Daya Hambat Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* terhadap *Bacillus subtilis*.

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening (mm)

Pelarut	Lama Inkubasi	Diameter Daya Hambat (mm) Ekstrak Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>

	(jam)						
		Suhu Ruang			Suhu Oven		
		2%	4%	6%	2%	4%	6%
Etanol	24	–	3,0	3,6	3,1	2,2	3,6
Kloroform	24	3,4	3,4	2,1	4,0	4,4	2,4

3. Tabel Daya Hambat Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* terhadap *Salmonella thypi*.

Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening (mm)							
Pelarut	Lama Inkubasi (jam)	Diameter Daya Hambat (mm) Ekstrak Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>					
		Suhu Ruang			Suhu Oven		
		2%	4%	6%	2%	4%	6%
Etanol	24	1,1	2,5	5,7	–	–	–
Kloroform	24	2,3	3,1	–	–	–	–

4. Daya Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Terhadap *Salmonella thypi*.

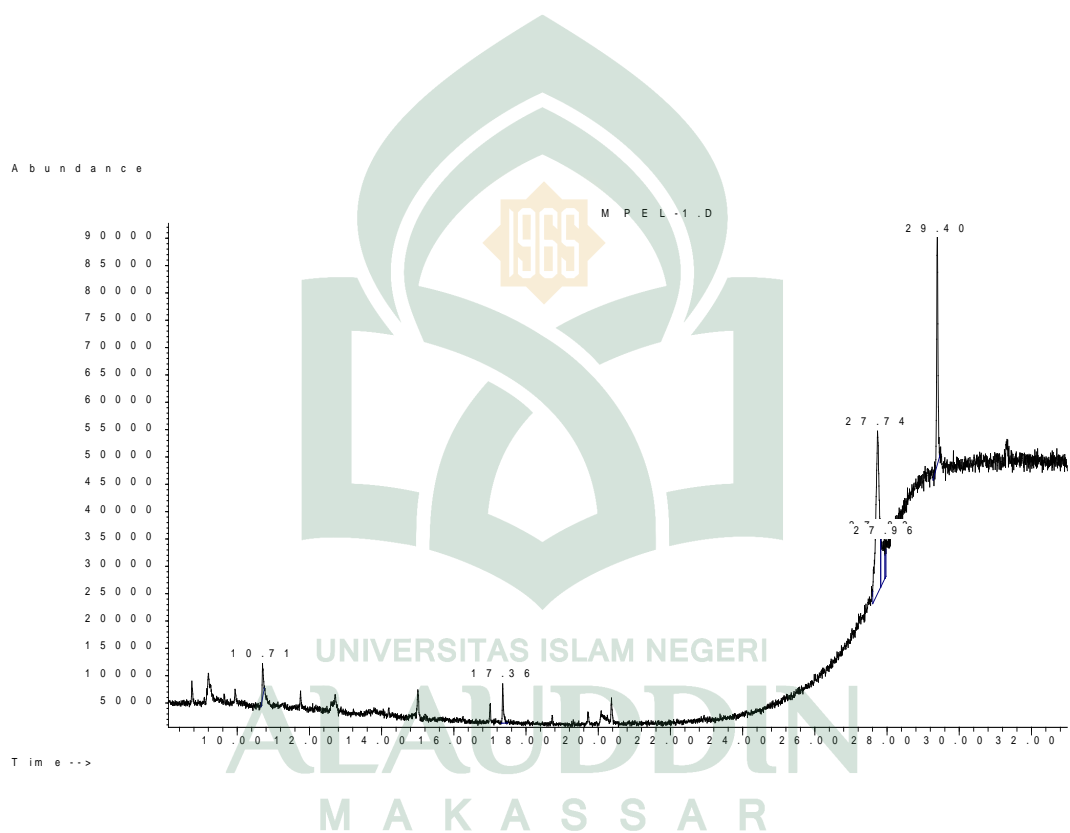
Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening (mm) Kontrol Positif dan Kontrol Negatif.			
Bakteri	Diameter Zona Bening (mm)		Lama Inkubasi
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	
<i>Salmonella thypi</i>	13,5	—	1 jam

5. Analisis Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dengan GC-MS.

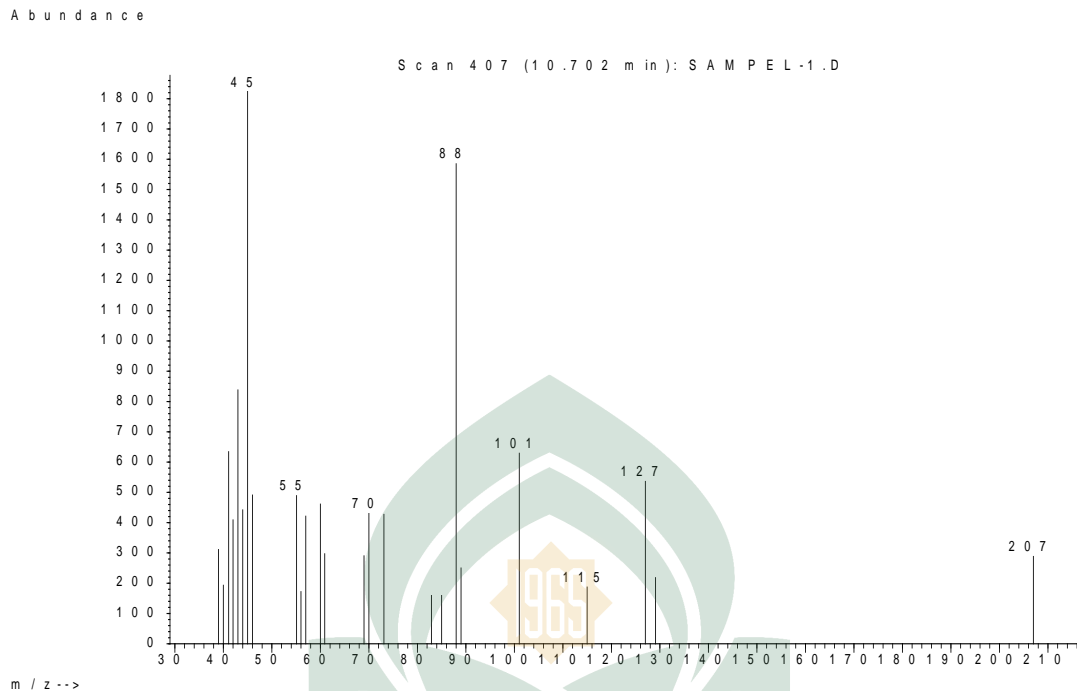
Tabel 4.5 Hasil Analisis GC-MS Ekstrak Etanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Puncak	Waktu Retensi (menit)	% Tinggi	% Luas Area	Perkiraan Senyawa
1.	10.702	5.90 %	2.969 %	Antosianidin
2.	17.360	6.80 %	4.268 %	Asam Oksalat

3.	27.738	28.73 %	50.252 %	Benzo[h]quinolina
4.	27.834	8.64 %	11.404 %	Siklotrisiloksan
5.	27.962	6.00 %	2.132 %	Heksametil
6.	29.395	43.90 %	28.975 %	Etil tetrasiloksan



Gambar 4.1 Kromatogram Ekstrak Etanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*



Gambar 4.2 Spektra Massa Puncak 1

B. Pembahasan

1. Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Alga merah *Eucheuma spinosum* diperoleh dari perairan Galesong Kabupaten Takalar. Alga merah ini diekstraksi untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam alga merah tersebut. Ekstrak *Eucheuma spinosum* diperoleh dengan metode ekstraksi dengan cara maserasi dengan lama perendaman serbuk simplisia selama 3x24 jam. Metode maserasi dipilih karena hanya membutuhkan peralatan yang sederhana. Serbuk simplisia direndam dengan pelarut organik, yaitu etanol 96% dan kloroform. Pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, etanol bersifat polar sedangkan kloroform bersifat nonpolar. Variasi pelarut ini bertujuan agar dapat menarik senyawa tertentu pada masing-masing ekstrak. Seperti pada pelarut polar dapat menarik senyawa pada ekstrak yang bersifat polar seperti flavonoid sedangkan pelarut nonpolar dapat menarik senyawa alkaloid.

Setelah perendaman 3x24 jam, dilanjutkan dengan evaporasi menggunakan Evaporator Vakum Putar (*Rotary Vacuum Evaporator*). Evaporasi atau penguapan bertujuan untuk mendapatkan larutan yang lebih padat atau yang lebih kental sehingga diperoleh ekstrak kental. Panas pada Evaporator akan menguapkan pelarut yang memiliki titik didih rendah sehingga menyisahkan larutan yang lebih kental. Selain itu, pemutaran labu alas bulat pada evaporator vakum putar membantu pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya. Ekstrak kental yang diperoleh diberi dua perlakuan yang berbeda, yaitu diuapkan pada suhu ruang dan diuapkan dengan suhu oven pada pemanasan 40 °C selama 3 jam. Perlakuan ini bertujuan untuk membandingkan ekstrak kental yang dilanjutkan dengan penguapan menggunakan oven dengan ekstrak kental yang diuapkan pada suhu ruang dalam menghambat bakteri.

Hasil yang diperoleh dari ekstrak kental yang dilanjutkan dengan penguapan menggunakan oven memiliki warna yang lebih gelap dibandingkan dengan ekstrak kental yang diuapkan pada suhu ruang. Perbedaan warna pada ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 4.1** dan **Lampiran 10**. Perbedaan warna ekstrak yang lebih gelap ini disebabkan adanya pemanasan dengan menggunakan oven sehingga menyebabkan pigmen pada ekstrak mengalami oksidasi sehingga warna ekstrak menjadi lebih gelap. Kestabilan flavonoid (antosianidin) yang terkandung dalam ekstrak juga dipengaruhi oleh suhu. Laju kerusakan (degradasi) flavonoid (antosianidin) cenderung meningkat selama proses penyimpanan yang diiringi dengan kenaikan suhu. Degradasi termal menyebabkan hilangnya warna pada antosianidin yang akhirnya terjadi pencoklatan (Rein, 2005 dalam Hayati, dkk, 2012: 139). Rusaknya atau hilangnya pigmen (antosianidin) pada ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* ini dapat mempengaruhi daya hambat ekstrak yang dihasilkan terhadap bakteri. Salah satu faktor yang dapat

merusak kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada *Eucheuma spinosum* adalah suhu tinggi sehingga dapat berpengaruh kepada daya hambat yang dihasilkan.

Ekstrak kental yang diperoleh dilanjutkan dengan menguji daya hambat ekstrak terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Salmonella thypi*. Ekstrak kental dibuat dengan variasi konsentrasi 2%, 4% dan 6% dan dilarutkan menggunakan pelarut DMSO. DMSO merupakan pelarut yang efektif dalam melarutkan berbagai bahan organik sehingga dapat digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam ekstrak.

2. Daya Hambat Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* Terhadap *Bacillus subtilis*.

Kemampuan adanya daya hambat ekstrak ditandai dengan adanya zona bening (area bening) di sekitar kertas cakram pada media. Media digunakan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri untuk tumbuh atau memperbanyak sel bakterinya, dalam hal ini *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis*. Kandungan nutrisi tersebut meliputi adanya sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, vitamin dan mineral. Bakteri uji ditanamkan dalam media ini dengan menebar suspensi bakteri di atas media. Media yang telah ditebarkan suspensi bakteri yang telah memadat, kemudian diletakkan kertas cakram yang telah diberi ekstrak di permukaan media. Sehingga untuk mengetahui ada tidaknya kemampuan daya hambat ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* dapat terlihat dengan adanya zona bening (area bening) yang ada di sekitar kertas cakram.

Ekstrak kental alga merah *Eucheuma spinosum* yang diuapkan dengan menggunakan suhu oven dan yang diuapkan pada suhu ruang menunjukkan adanya area bening di sekitar kertas cakram yang menandakan adanya daya hambatan ekstrak terhadap bakteri. Diameter daya hambat ekstrak dengan penguapan suhu ruang dan

suhu oven terhadap *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada **Tabel 4.2**. Daya hambat ekstrak etanol pada suhu ruang konsentrasi 2%, 4% dan 6% terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara berturut-turut ialah sebesar 0 mm; 3,0 mm dan 3,6 mm sedangkan daya hambat ekstrak kloroform secara berturut-turut ialah sebesar 3,4 mm; 3,4 mm dan 2,1 mm. Diameter daya hambat ekstrak etanol pada suhu oven konsentrasi 2%, 4% dan 6% terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara berturut-turut ialah sebesar 3,1 mm; 2,2 mm dan 3,6 mm sedangkan diameter daya hambat ekstrak kloroform secara berturut-turut ialah sebesar 4,0 mm; 4,4 mm dan 2,4 mm. Ekstrak etanol dan ekstrak kloroform mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram, dapat dilihat pada **Lampiran 13**. Suatu antimikroba bersifat bakteristatik jika senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Hanapi, dkk (2013), ekstrak metanol *Eucheuma spinosum* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* memiliki daya hambat sebesar 4 mm dan 3 mm dalam konsentrasi ekstrak 80 mg/mL dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram.

Hasil yang diperoleh juga menunjukkan bahwa ekstrak alga merah yang dilanjutkan dengan penguapan pada suhu oven, yaitu pada suhu 40 °C selama 3 jam masih menunjukkan adanya daya hambatan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Hal ini disebabkan karena pada suhu 40 °C bukan merupakan suhu atau pemanasan yang tergolong tinggi, sehingga tidak merusak kandungan metabolit sekunder pada ekstrak alga merah yang dapat berpengaruh pada diameter daya hambatan.

Peningkatan aktivitas zona hambat dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi pada masing-masing ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar diameter zona bening di sekitar kertas cakram. Hal ini dikarenakan senyawa aktif yang

terdapat dalam ekstrak yang bersifat antibakteri semakin banyak dengan semakin besarnya konsentrasi ekstrak sehingga kemampuan dalam menghambat juga semakin besar (Hanapi, dkk 2013: 134).

Diameter zona bening pada ekstrak kloroform konsentrasi 6% mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh adanya resistensi bakteri terhadap senyawa antibakteri. Terjadinya resistensi dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam menghambat kerja senyawa antibakteri oleh mutasi yang kemungkinan bakteri untuk memintasi langkah-langkah peka yang dihambat oleh zat antibakteri atau oleh mutasi yang menyebabkan senyawa antibakteri menjadi sulit untuk ditembus oleh bakteri (Volk dan Wheeler, 1993 dalam Hanapi, 2013: 130). Selain itu, Pelczar dan Chan (dalam Alamsyah 2014: 75) menyatakan bahwa setiap bakteri memiliki kerentanan yang berbeda terhadap sifat fisik dan kimia yang dimiliki oleh senyawa antibakteri dan sifat resistensi terhadap senyawa antimikroba dapat disebabkan sifat yang dimiliki mikroorganisme itu sendiri.

3. Daya Hambat Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum* Terhadap *Salmonella thypi*.

Daya hambat ekstrak alga merah terhadap *Salmonella thypi* dapat dilihat pada Tabel 4.3. Diameter daya hambat ekstrak alga merah dalam etanol konsentrasi 2%, 4% dan 6% terhadap *Salmonella thypi* pada suhu ruang diperoleh secara berturut-turut sebesar 1,1 mm; 2,5 mm dan 5,7 mm sedangkan daya hambat ekstrak kloroform secara berturut-turut sebesar 2,3 mm; 3,1 mm dan 0 mm. Ekstrak alga merah pada suhu oven tidak memberikan hambatan terhadap *Salmonella thypi*.

Diameter daya hambat ekstrak yang dihasilkan terhadap *Bacillus subtilis* lebih besar dibandingkan *Salmonella thypi*. Hal ini dapat disebabkan dari perbedaan yang dimiliki oleh kedua bakteri. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif

sedangkan *Salmonella thypi* merupakan bakteri gram negatif. Perbedaan diameter daya hambat pada bakteri gram positif dan gram negatif dapat dihubungkan dengan struktur dinding sel yang dimilikinya.

Dinding sel bakteri gram positif mengandung banyak lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku dan asam teikoat yang mengandung alkohol dan fosfat. Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif mengandung satu atau beberapa lapis peptidoglikan, lipopolisakarida dan membran luar. Lipopolisakarida merupakan makromolekul berupa kompleks antara senyawa lipid dan polisakarida dengan ikatan kovalen. Senyawa lipid ini mampu mencegah masuknya bahan kimia (zat antibakteri) dari luar. Membran luar pada bakteri juga berfungsi sebagai lapisan pelindung pada bakteri gram negatif dari zat-zat yang bersifat racun karena membran luar pada bakteri mengandung lipid, termasuk zat antibakteri yang mampu menghambat sintesis peptidoglikan, dengan adanya membran luar ini akan menetrasi antibakteri ke daerah sasaran yaitu membran terdalam untuk melakukan aktivitasnya, sehingga menyebabkan zat antibakteri kurang efektif terhadap beberapa gram negatif.

Lebih lanjut mengenai bakteri gram positif, menurut Tortora (dalam Manu, 2013: 8), bakteri gram positif lebih peka terhadap senyawa antimikroba karena dinding sel bakteri gram positif tidak memiliki lipopolisakarida sehingga senyawa antimikroba yang bersifat hidrofobik dan hidrofilik dapat melewati dinding sel dari bakteri gram positif kemudian berinteraksi langsung dengan peptidoglikan pada sel bakteri yang sedang tumbuh dan menyebabkan kematian sel.

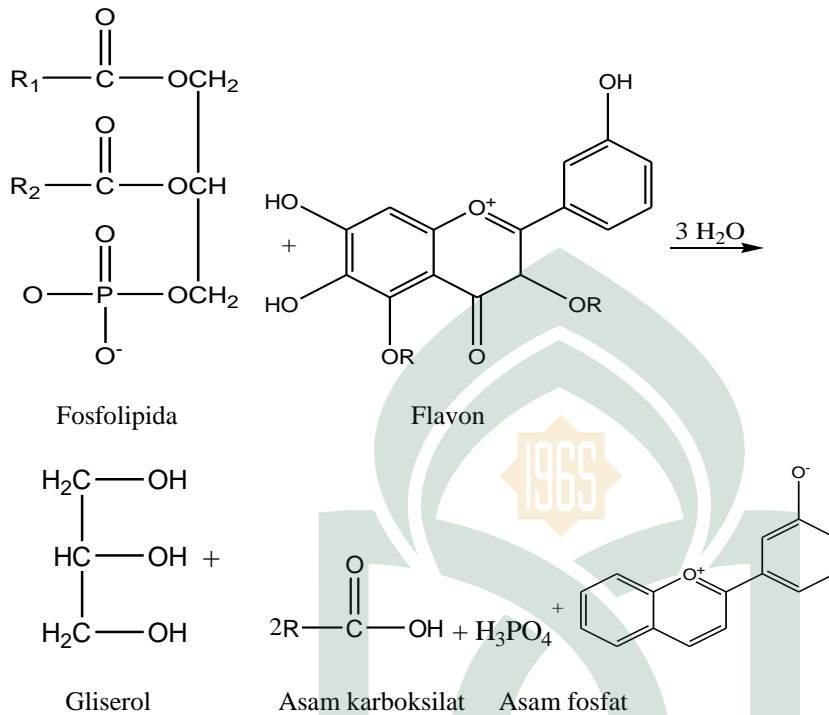
4. Daya Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Terhadap *Salmonella thypi*.

Diameter daya hambat pada amoksisilin sebagai kontrol positif dapat dilihat pada **Tabel 4.4**. Kontrol positif digunakan sebagai perbandingan antara ekstrak yang

memiliki senyawa antibakteri dengan antibiotik yang telah diketahui mampu menghambat bahkan membunuh bakteri. Berdasarkan dari daya kerjanya, antibiotik dibedakan atas dua, yaitu bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik mampu menghambat pertumbuhan dari mikroba sedangkan bakteriosidal mampu menghambat bahkan mematikan mikroba. Antibiotik yang digunakan ialah antibiotik dari golongan penisilin. Salah satu antibiotik dari golongan penisilin yang digunakan ialah amoksisilin. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dikarenakan memiliki spektrum yang luas yang dapat menghambat bakteri baik itu gram positif maupun gram negatif. Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan (aquades) juga dapat menghambat bakteri atau tidak. Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa daya hambat pada kontrol positif terhadap *Salmonella thypi* sebesar 13,5 mm dengan lama perendaman kertas cakram selama 1 jam.

Senyawa flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa kimia yang terkandung dalam alga merah *Eucheuma spinosum* yang bersifat bakteriostatik yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Rusaknya membran sitoplasma ini menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, sehingga hal ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Kerusakan pada membran sitoplasma menyebabkan ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan. Reaksi penguraian

fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon ditunjukkan pada gambar dibawah ini.



Gambar 4.3 Reaksi Penguraian Fosfolipida pada Membran Sitoplasma Bakteri oleh Flavon.
(Prajitno, 2007 dalam Retnowati, 2011: 7).

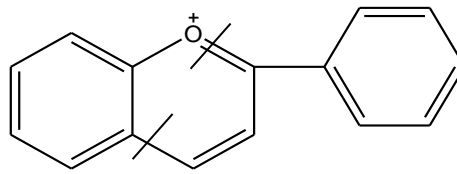
5. Analisis Senyawa Alga merah *Eucheuma spinosum* dengan Menggunakan GC-MS

Kandungan metabolit sekunder alga merah dianalisis menggunakan GC-MS. Setelah dilakukan pengujian daya hambat dan ditunjukkan dengan adanya zona bening, maka ekstrak kental dilanjutkan dengan pengujian menggunakan GC-MS untuk mengetahui komponen-komponen yang terkandung dalam ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum*. Berdasarkan hasil analisis dengan GC-MS diperoleh dua data yaitu kromatogram yang berasal dari hasil analisis GC dan spektrum massa. Hasil kromatogram GC ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* menunjukkan adanya 6 puncak. Kromatogram GC ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* dapat

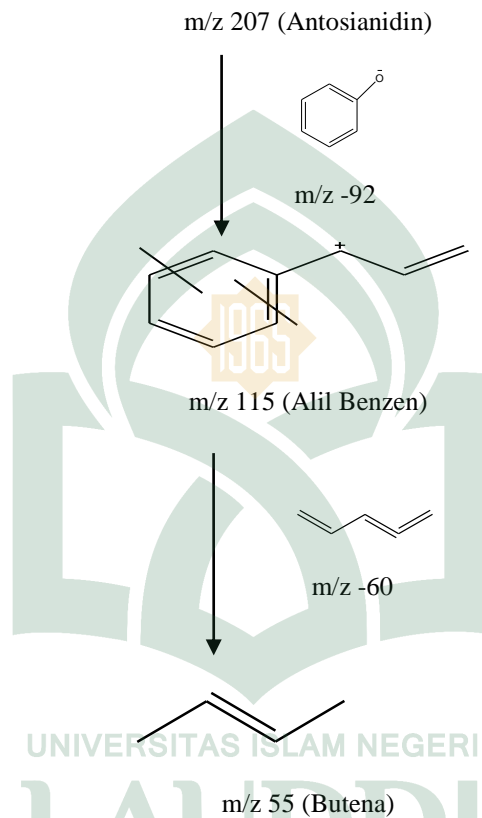
dilihat pada **Gambar 4.1**. Puncak 1 dengan waktu retensi 10.702 menit diduga merupakan senyawa antosianidin dengan kelimpahan sebesar 2.969%. Puncak 2 dengan waktu retensi 17.360 menit diduga merupakan senyawa asam oksalat dengan besar kelimpahan 4.268%. Puncak 3 dengan waktu retensi 27.738 menit diduga merupakan senyawa benzo[h]quinolina dengan kelimpahan 50.252%. Puncak 4 dengan waktu retensi 27.834 diduga merupakan senyawa siklotrisiloksan dengan kelimpahan sebesar 11.404%. Puncak 5 dengan waktu retensi 27.962 menit diduga merupakan senyawa heksametil dengan kelimpahan 2.132% dan puncak 6 dengan waktu retensi 29.395 diduga merupakan etil tetrasilokan dengan kelimpahan 28.9745%.

Identifikasi komponen lebih lanjut dilakukan dengan MS. Berdasarkan hasil MS diperoleh spektra massa masing-masing puncak yang terdeteksi pada kromatogram GC yang ditunjukkan pada **Gambar 4.2** pada komponen puncak 1 dengan waktu retensi 10.702 menit dan kelimpahan sebesar 2.969% menunjukkan puncak-puncak pada spektrum MS dengan nilai m/z sebagai berikut: 45, 55, 70, 88, 101, 115, 127 dan 207. Berdasarkan puncak fragmentasi yang dihasilkan, menunjukkan adanya puncak ion molekul m/z 45 sebagai *base peak* (puncak dasar) dan puncak ion molekul m/z 207 sebagai puncak yang berada dibagian ujung kanan merupakan bobot molekul dari senyawa yang diperkirakan merupakan senyawa antosianidin.

Puncak ion m/z 207 yang diduga merupakan senyawa antosianidin kehilangan massa molekul sebanyak 92 dan membentuk struktur alil benzen yang ditunjukkan oleh puncak ion m/z 115. Setelah itu, terjadi pemutusan ke struktur yang lebih sederhana, yaitu dari m/z 115 kehilangan massa molekul sebanyak 55 yang diketahui merupakan butena. Berikut pola fragmentasi dari ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum*.



Gambar 4.4 Struktur Antosianidin (Raharjo, 2013: 113)



Gambar 4.5 Fragmentasi Antosianidin

Puncak ion molekul pada m/z 207 menunjukkan berat molekul dari antosianidin. Antosianidin memiliki rumus molekul $C_{15}H_{11}O$. Antosianidin merupakan salah satu kelompok utama senyawa flavonoid yang merupakan senyawa yang memberikan warna merah pada tanaman. Antosianidin merupakan pigmen yang terdapat dalam jaringan alga merah yang bermanfaat untuk melawan atau menghambat virus, bakteri dan parasit (Bahri, 2007 dalam Rohmat dkk, 2014: 118). Flavonoid juga

merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang memiliki sifat yang efektif dalam menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform dengan berbagai konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Salmonella thypi* ialah dalam etanol yaitu sebesar 5,7 mm.
2. Daya hambat optimum ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* diantara etanol dan kloroform dengan berbagai konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ialah dalam etanol yaitu sebesar 3,6 mm.

B. Saran

Saran untuk penelitian sebaiknya dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan UV-Vis untuk mengetahui golongan senyawa pada sampel dan juga menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi pada sampel ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdan, dkk. "Pengaruh Jarak Tanam Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Karagenan Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) Menggunakan Metode Long Line". *Jurnal Mina Laut Indonesia* 03, no. 12 (2013): h. 113-123.
- Abidin, Zainul, dkk. "Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp Dan *Pseudomonas* sp Terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai". *Jurnal HPT* 3, no. 1 (2015): h. 1-7.
- Alam, A. Alfianingsi. "Kualitas Karagenin Rumput Laut Jenis *Eucheuma spinosum* Di Perairan Desa Punaga Kabupaten Takalar". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin, 2011.
- Alamsyah, Heru Kurniawan, dkk. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) Dari Perairan Pulau Panjang Jepara Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*". *Journal Of Marine Research* 3, no. 2 (2014): h. 69-78.
- Ali, Sufriyana. "Pengujian Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri, 2012.
- Bintang, Maria. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga, 2010.
- Basuki, Fanny Pranata. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Gelidium* sp J. Agar dengan Variasi Lama Maserasi dan Jumlah Daur Sokletasi Terhadap *Escherichia coli* IFO 3301 dan *Salmonella typhimurium* IFO 12529". *Skripsi*. Jogjakarta: Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya, 2009.
- Diharmi, Andarini dkk. "Karakteristik Karagenan Hasil Isolasi *Eucheuma spinosum* (Alga Merah) Dari Perairan Semenep Madura". *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 39, no. 2 (2011): h. 117-124
- Dwyana, Zaraswati, dkk. "Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma cottoni* Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen" (2013): h. 1-7.
- Febiana. Tia. "Kajian Rasionalitas Penggunaan Antibiotik Di Bangsal Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang Periode Agustus-Desember 2011". *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, 2012.
- Ghufran H, Kordi. *A to Z Budi Daya Biota Akuatik Untuk Pangan, Kosmetik dan Obat-obatan*. Yogyakarta: Andi Offset, 2010.
- Haeria. *Kimia Produk Alami*. Makassar: Alauddin University Press, 2014.
- Hamka. *Tafsir Al-Azhar Juzu Ke-13-14*. Jakarta: PT. Pustaka Panjimas, 1983.
- Hanapi, Ahmad, dkk. "Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi". *Jurnal Alchemy* 2, no. 2 (2013): h. 126-137.
- Harborne, J. B. *Phytochemical Methods*. Terj. Kosasih Padmawinata. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB, 1987.

- Hayati, E.K, dkk. "Konsentrasi Total Senyawa Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.): Pengaruh Temperatur dan pH". *Jurnal Kimia* 6, no.2 (2012): h.138-147.
- Hifizah, Amriana. *Mikrobiologi Ternak*. Makassar: UIN Press, 2012.
- Hijaz, Melka Nurul. "Uji Aktivitas Antioksidan Karaginan Dalam Alga Merah Jenis *Eucheuma spinosum* dan *Gracillaria verrucosa*". *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Malang, 2009.
- Ibnu, Katsir. *Al-Mishbaahul Muniir fu Tahdziibi Tafsiri Ibni Katsir*. Terj. Tim Pustaka. Ibnu Katsir. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, 2010.
- Ilyas, Asriany. *Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar: UIN Press, 2013.
- Kasanah, Noer, dkk. "Antibacterial Compounds From Red Seaweeds (Rhodophyta)". *Indones J. Chem* 15, no. 2 (2015): h. 201-209.
- Khaeruni, Andi, dkk. "Efektivitas Limbah Cair Pertanian Sebagai Media Perbanyakan dan Formulasi *Bacillus subtilis* Sebagai Agens Hayati Patogen Tanaman". *Jurnal Agroteknos* 3, no. 3 (2013): h. 144-151.
- Kosim, Muhammad dan Surya Rosa Putra. "Pengaruh Suhu Pada Protease dari *Bacillus subtilis*". *Skripsi* (2009-2010): h. 1-7.
- Manu, Ratna Radjani Sakti. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*". *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya* 2, no. 1 (2013): h. 1-10
- Mardiyah, Ulfatul, dkk. "Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi". *Jurnal Alchemy* 3, no. 1 (2014): h. 39-46.
- Marianingsih, Pipit, dkk. "Inventarisasi dan Identifikasi Makroalga Di Perairan Pulau Untung Jawa". *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, (2013): h. 219-225.
- Nuraina. "Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia benthami* Pierre dengan Metode Dilusi". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, 2015.
- Pratiwi, Sylvia T. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga, 2008.
- Prima, Muhammad Irwan. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Gram Positif dan Gram Negatif". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarifhidayatullah, 2012.
- Purnama, Wimpi Bea, dkk "Aktivitas Antibakteri Glukosa Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*". *Naskah Publikasi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2013.
- Respati, Nirub Wijaya Budi. "Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val)".

Skripsi. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, 2010.

Retnowati, Yuliana, dkk. "Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)". *Jurnal Saintek* 6, no. 2 (2011): h. 1-9.

Rohmat, Nur, dkk. "Pengaruh Perbedaan Suhu dan Lama Penyimpanan Rumput Laut (*Sargassum polycystum*) Terhadap Stabilitas Ekstrak Kasar Pigmen Klorofil". *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* 3, no. 1 (2014): h. 118-126.

Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati, 2002.

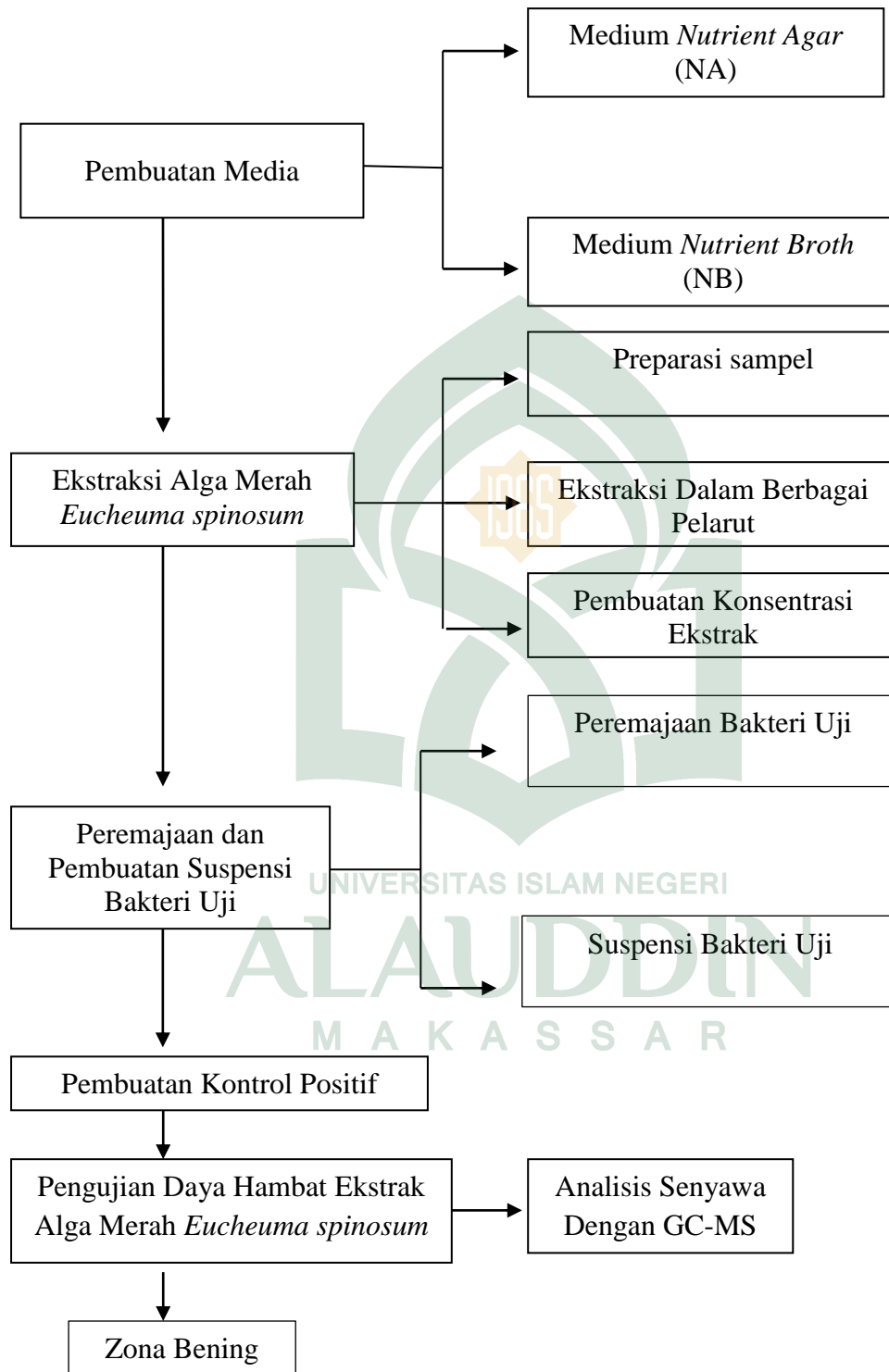
Silaban, Lowysa Wanti. "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Kulit Buah Sentul (*Sandoricum Koetjape* (Burm. f.) Merr) Terhadap Beberapa Bakteri Secara *In Vitro*". *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, 2009.

Singkoh, Marina Flora Oktavine. "Aktivitas Antibakteri Alga Laut *Caulerpa racemosa* Dari Perairan Pulau Nain". *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis* 7, no. 3 (2011): h. 123-127.

Sopyan, Ade Satria. "Karakterisasi Fisiologi dan Identifikasi Biomolekuler Isolat-Isolat *Bacillus* sp Penghasil Bakteriosin Asal Hutan Wana Wisata Cangkuang". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian, 2009.

Srikong, Watee dkk. "Antimicrobial activity of seaweed extracts from Pattani, Southeast coast of Thailand". *Food and Applied Bioscience Journal* 3, no. 1 (2015): h. 39-49.

Lampiran 1. Skema Penelitian



Lampiran 2. Skema Pembuatan Media Bakteri Uji

Pembuatan Media NA

Komponen medium
NA

- Ditimbang sebanyak 5 gram dalam 200 mL aquadest.
- Disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

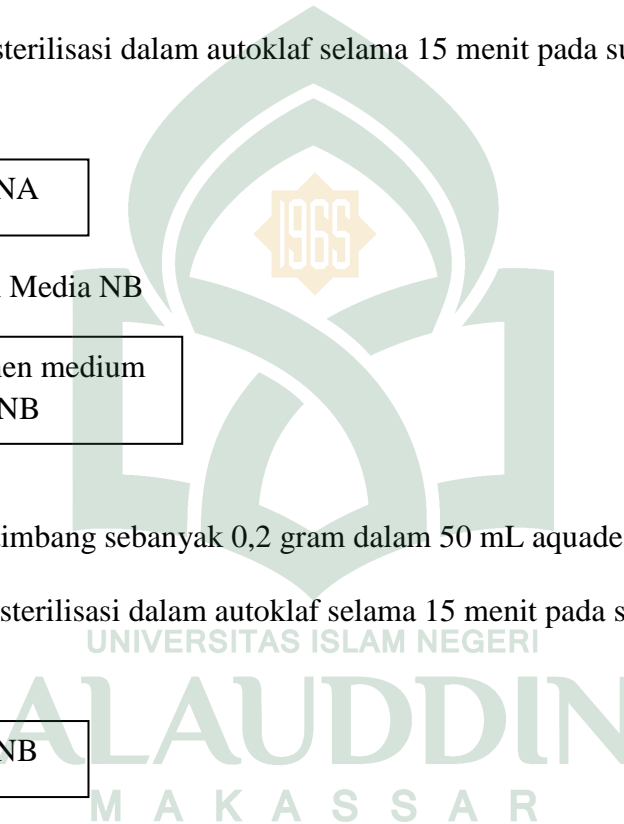
Media NA

Pembuatan Media NB

Komponen medium
NB

- Ditimbang sebanyak 0,2 gram dalam 50 mL aquadest.
- Disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Media NB



Lampiran 3. Skema Ekstraksi Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Preparasi Sampel

Alga merah *Eucheuma spinosum*

- Dicuci dengan air bersih dan dilanjutkan pembilasan dengan aquades.
- Dikeringkan selama 8 hari.
- Dihaluskan menggunakan mesin penggilingan hingga mendapatkan serbuk halus alga merah *Eucheuma spinosum*.

Serbuk halus alga merah
Eucheuma spinosum

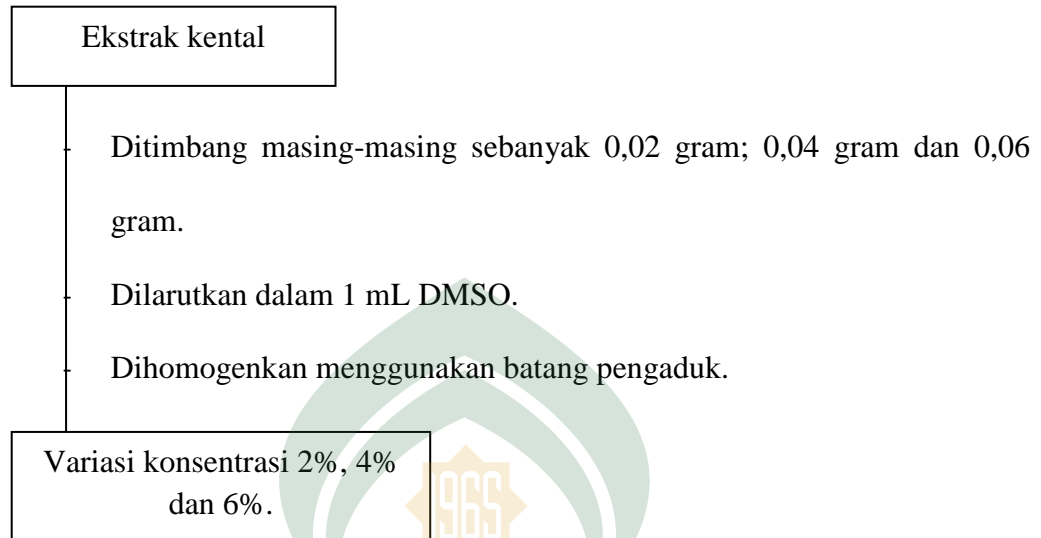
Ekstraksi Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dalam Etanol dan Kloroform

Serbuk halus alga merah
Eucheuma spinosum

- Direndam dalam masing-masing pelarut etanol 96% dan kloroform hingga terendam seluruhnya selama 3x24 jam.
- Maserat dipisahkan dari ampas dengan penyaringan menggunakan corong yang telah dilapisi kertas saring.
- Dievaporasi.
- Ekstrak disimpan dalam dua wadah (ekstrak wadah I diuapkan pada suhu ruang dan ekstrak wadah II diuapkan pada suhu oven pada suhu 40°C selama 3 jam).

Ekstrak kental

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum*



Lampiran 4. Skema Peremajaan dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Peremajaan Bakteri Uji

Bacillus subtilis dan *Salmonella thypi*

- Masing-masing diambil sebanyak 2 ose dari biakan murninya.
- Ditumbuhkan atau diinokulasikan dengan cara digores pada medium Nutrien Agar (NA) miring.
- Kultur bakteri pada masing-masing agar miring diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Biakan bakteri

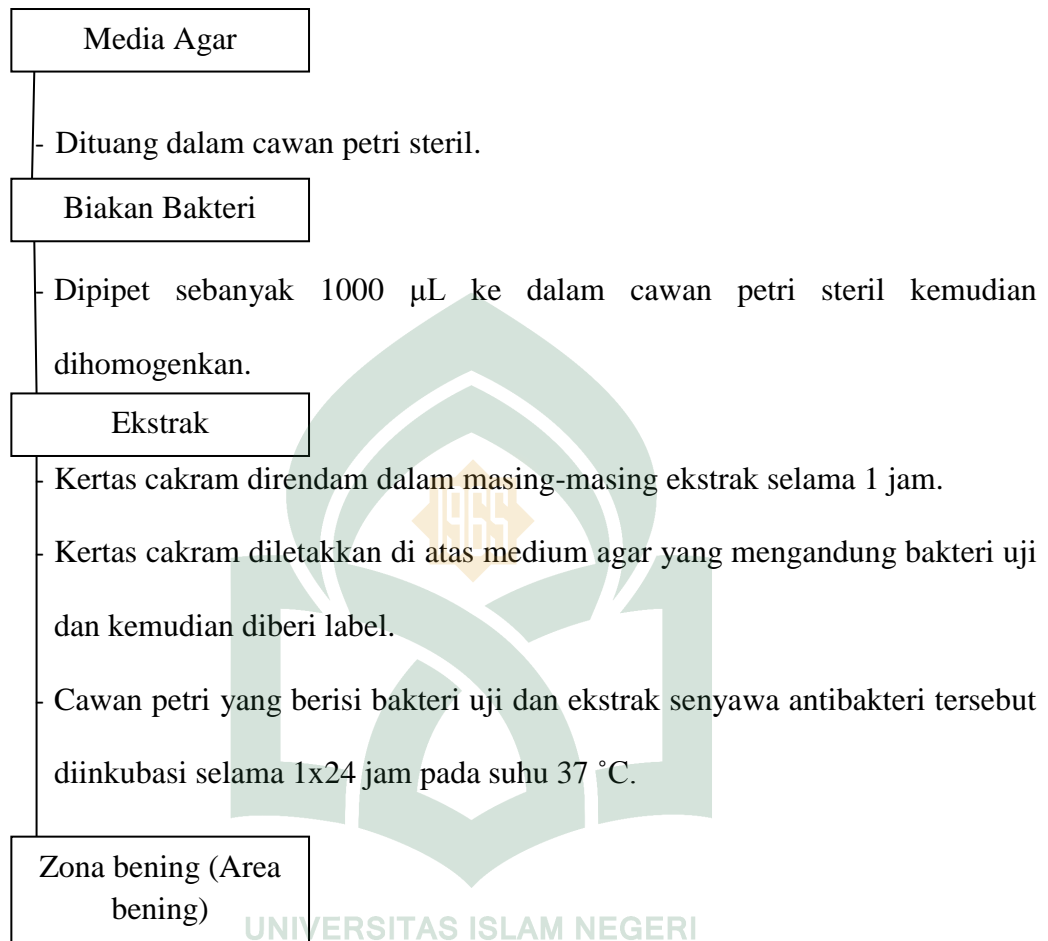
Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri Uji

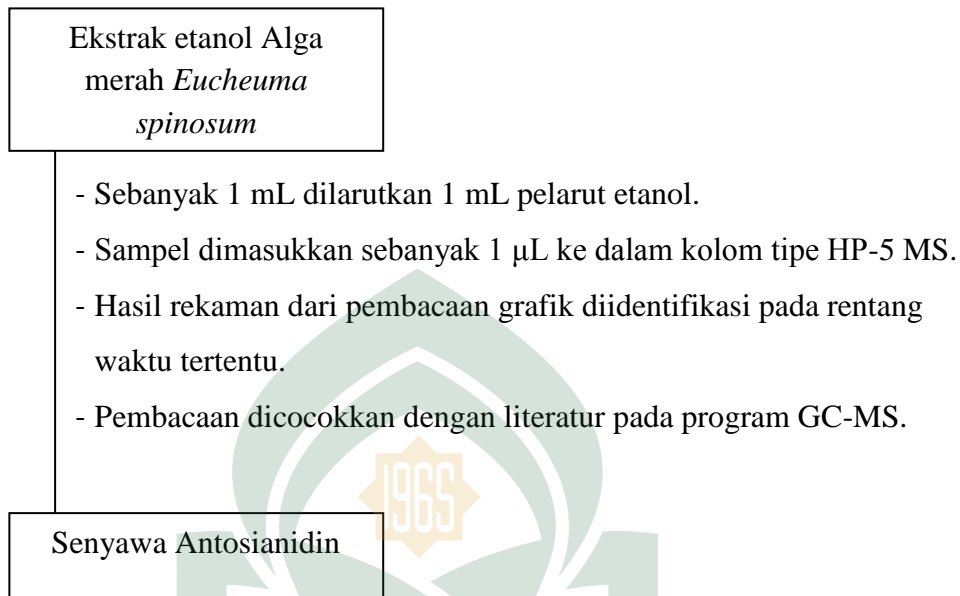
- Disuspensikan dalam media NB.
- Diinkubasi dalam *shaker waterbath* selama 24 jam pada suhu 37 °C.
- Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan pada media yang telah disuspensikan

Suspensi Bakteri

Lampiran 5. Skema Pengujian Daya Hambat Ekstrak *Eucheuma spinosum*



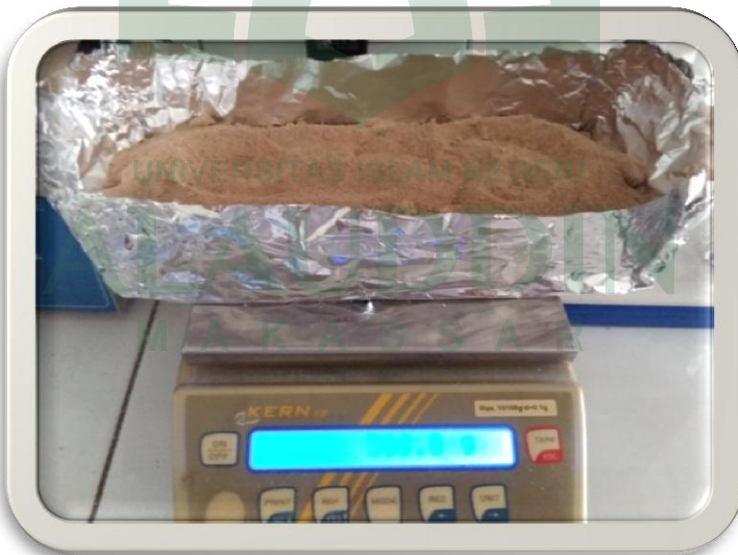
Lampiran 6. Skema Analisis Senyawa Menggunakan GC-MS



Lampiran 8. Preparasi Sampel



Alga merah *Eucheuma spinosum*.



Serbuk halus alga merah *Eucheuma spinosum*

Lampiran 9. Ekstraksi Alga Merah *Eucheuma spinosum*



Maserat Alga Merah

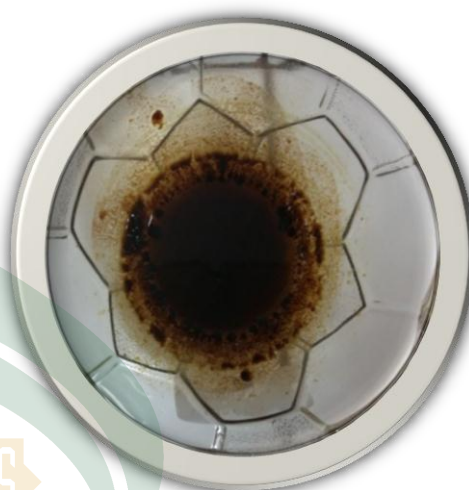


Ekstrak Kental

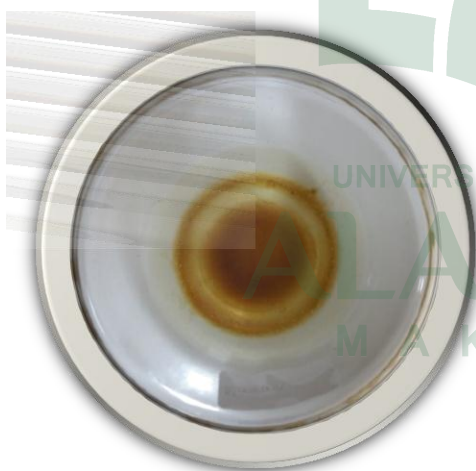
Lampiran 10. Warna Ekstrak Dengan Penguapan Suhu Ruang dan Suhu Oven



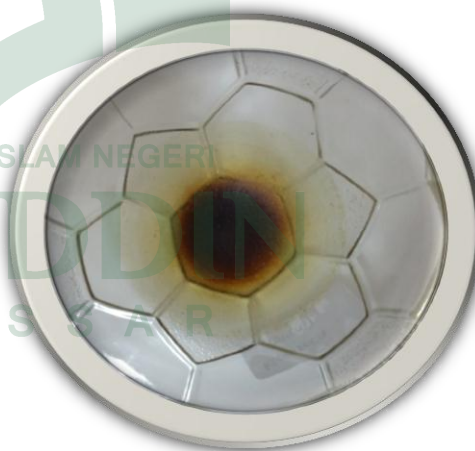
Ekstrak Etanol



Ekstrak Etanol Suhu Oven



Ekstrak Kloroform



Ekstrak Kloroform Suhu Oven

Lampiran 11. Inokulasi Bakteri



Salmonella thypi

Bacillus subtilis

Lampiran 12. Pembuatan Suspensi Bakteri



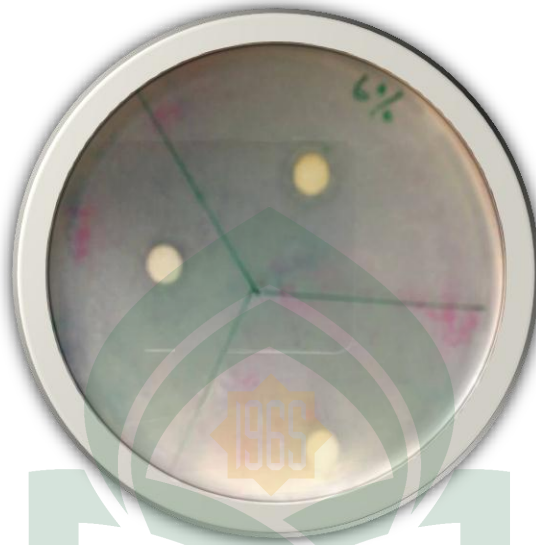
Media nutrisi broth yang telah disterilisasikan dimasukkan ke dalam biakan bakteri uji ke dalamnya.



Hasil setelah dihomogenkan dalam
shaker waterbath

Lampiran 13. Uji Aktivitas Daya Hambat

Ekstrak Dengan Penguapan Suhu Ruang Terhadap *Bacillus subtilis*.

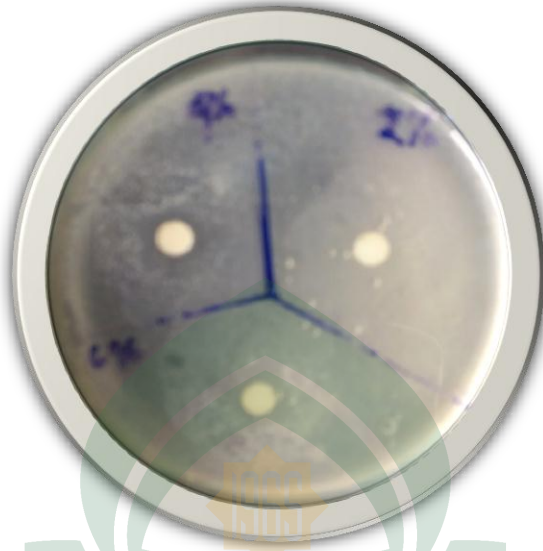


Ekstrak Etanol



Ekstrak kloroform

Ekstrak Dengan Penguapan Suhu Ruang Terhadap *Salmonella thypi*.

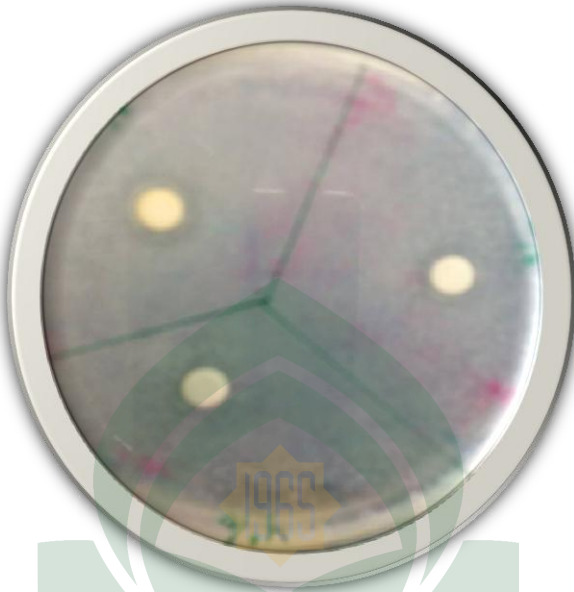


Ekstrak Etanol



Ekstrak kloroform

Ekstrak Dengan Penguapan Suhu Oven Terhadap *Bacillus subtilis*

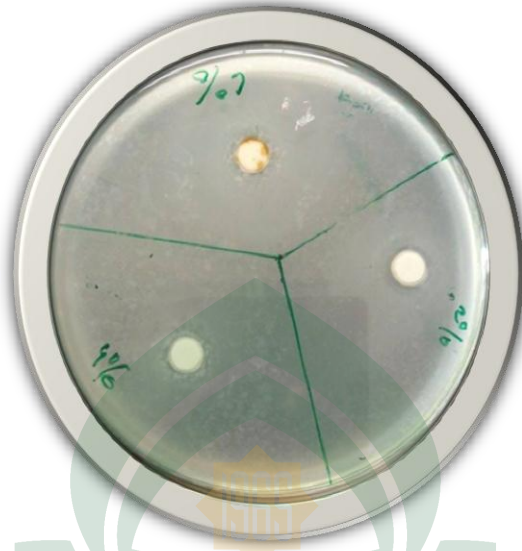


Ekstrak etanol

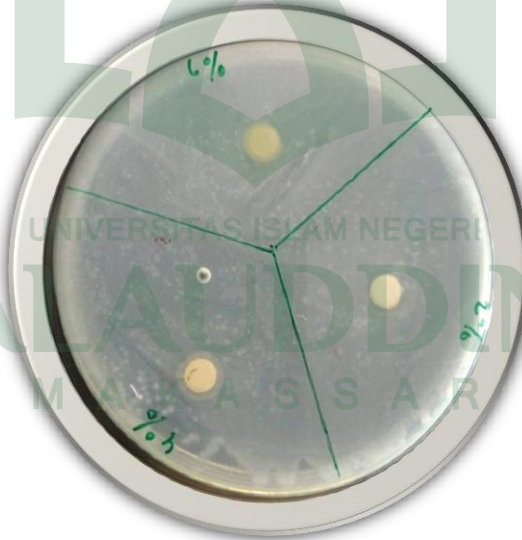


Ekstrak kloroform

Ekstrak Dengan Penguapan Suhu Oven Terhadap *Salmonella thypi*

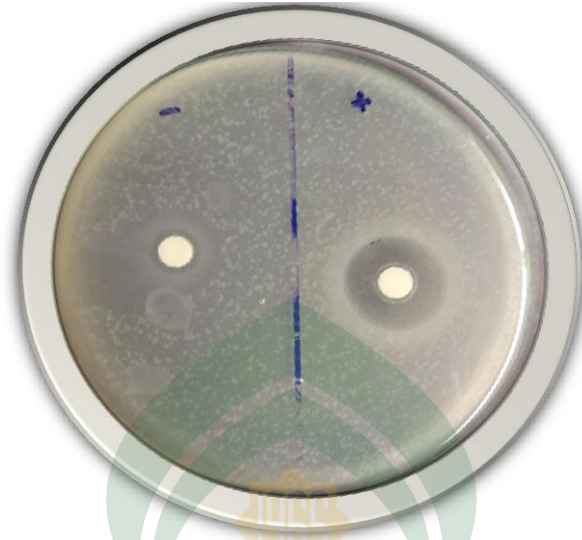


Ekstrak Etanol



Ekstrak kloroform

Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Terhadap *Salmonella thypi*.



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Lampiran 14. Hasil Persen Volume Ekstrak Etanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*

Area Percent Report

Data Path : C:\MSDCHEM\1\data\SAMPEL SRI WAHYUNI\
Data File : SAMPEL-1.D
Acq On : 21 May 2016 22:51
Operator : SRI WAHYUNI
Sample : SAMPEL-4
Misc : EKSTRAK+ETHANOL
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: EVENTS.E
Integrator: ChemStation

Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\DEFAULT.M
Title :

Signal : TIC

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	10.702	400	407	414	PV 5	5918	112518	5.91%	2.969%
2	17.360	1437	1443	1463	PV 3	6814	161728	8.49%	4.268%
3	27.738	3037	3058	3072	VV 7	28782	1904240	100.00%	50.252%
4	27.834	3072	3073	3090	VV 7	8657	432161	22.69%	11.404%
5	27.962	3090	3093	3094	VV 3	6019	80788	4.24%	2.132%
6	29.395	3298	3316	3325	PV 3	43975	1097982	57.66%	28.975%

Sum of corrected areas: 3789418

DEFAULT.M Thu May 26 18:32:15 2016

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Lampiran 15. Perhitungan Pembuatan Konsentrasi Ekstrak dalam Variasi Konsentrasi

a. Ekstrak 2% Sebanyak 1 mL DMSO

$$\% = \frac{b}{v}$$

$$\frac{2 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{b}{1 \text{ mL}}$$

$$b = 0,02 \text{ gram}$$

b. Ekstrak 4% Sebanyak 1 mL DMSO

$$\% = \frac{b}{v}$$

$$\frac{4 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{b}{1 \text{ mL}}$$

$$b = 0,04 \text{ gram}$$

c. Ekstrak 6% Sebanyak 1 mL DMSO

$$\% = \frac{b}{v}$$

$$\frac{6 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{b}{1 \text{ mL}}$$

$$b = 0,06 \text{ gram}$$

RIWAYAT HIDUP



Nama : Sri Wahyuni
NIM : 60500112053
Alamat : Jl. Malino Batangkaluku No. 47
E-mail : sriw18@ymail.com
Facebook : Bey II

Nama lengkap Sri Wahyuni dipanggil Sri dan juga Bey. Lahir di Batangkaluku pada tanggal 26 Juli 1994. Anak terakhir dari 5 bersaudara dari pasangan H. Nai dan Hj. Mami. Memulai pendidikan non formal di Taman Kanak-kanak Bhayangkara pada tahun 2000-2001 kemudian melanjutkan pendidikan formal dibangku SD di SD Inpres Sungguminasa pada tahun 2001-2006, kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 2 Sungguminasa pada tahun 2006-2009, kemudian melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Sungguminasa pada tahun 2009-2012. Setelah menyelesaikan pendidikan dibangku sekolah, kemudian melanjutkan pendidikan di bangku kuliah UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) ALAUDDIN MAKASSAR Jurusan KIMIA Fakultas SAINS dan TEKNOLOGI.